

**Schlupfbedingungen sowie Wirtfindungsverhalten
der Mirazidien von *Paramphistomum cervi*
an *Planorbis planorbis***

Ein Beitrag zur Entwicklung von
Paramphistomum cervi

Karlheinz Schmid

1980

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
und Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch

Schlupfbedingungen sowie Wirtfindungsverhalten der Mira-
zidien von *Paramphistomum cervi* an *Planorbis planorbis*

Ein Beitrag zur Entwicklung von
Paramphistomum cervi

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München



von

Karlheinz Schmid

aus

München

München 1980

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. v. Sandersleben

Referent: Prof. Dr. Dr. h.c.J. Boch

Korreferent: Prof. Dr. M. Ruf

Tag der Promotion: 25. Juli 1980



Inhaltsverzeichnis

Seite

I.	Einleitung.....	1
II.	Vorkommen und Entwicklung von Paramphistomiden sowie Möglichkeiten der Zwischenwirtfindung bei Trematoden (anhand der Literatur).....	2
III.	Eigene Untersuchungen.....	12
	A. Material und Methoden	12
	B. Ergebnisse	16
	1. Schlupfrate der Mirazidien	16
	a) Einfluß der Temperatur	16
	b) Einfluß des pH-Wertes	17
	c) Einfluß des Lichtes	19
	2. Verhalten der Mirazidien nach dem Schlupf - Zwischenwirtfindung ...	23
	a) Subjektive Beobachtungen	23
	b) Dunkelfeldfotographie	26
	c) Quantitative Aussage	34
	3. Infektion der Zwischenwirtschnecke mit Mirazidien	38
	a) Erforderliche Infektionsdosis	38
	b) Reaktion der Schnecke auf die Infektion	39
IV.	Besprechung der Ergebnisse	43
V.	Zusammenfassung	59
	Summary	60
VI.	Literaturverzeichnis	61
	Lebenslauf	

I. Einleitung

Die Paramphistomiasis ist eine durch Trematoden hervorgerufene Parasitose aller Wiederkäuer, die vor allem in den tropischen Ländern bei seuchenhaftem Auftreten zu großen wirtschaftlichen Verlusten bei Jungtieren führt. In Deutschland spielt sie in nur wenigen Gebieten eine gewisse Rolle für die tierische Produktion.

Da sich bei Paramphistomiden eine wesentliche Phase der Entwicklung in der Außenwelt und in einer Zwischenwirtschnecke abspielt, hängt eine für klinische Erscheinungen beim Endwirt ausreichend starke Infektion von vielen Umweltfaktoren ab.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die optimalen Bedingungen für das Schlüpfen der Mirazidien aus den Eiern zu ermitteln, das Verhalten der Mirazidien an der Zwischenwirtschnecke *Planorbis planorbis* zu beobachten, den Einfluß der Infektionsdosis auf den Zwischenwirt zu untersuchen und die Reaktion der Schnecke auf die Infektion zu klären.

II. Vorkommen und Entwicklung von Paramphistomiden sowie Möglichkeiten der Zwischenwirtsfindung bei Trematoden (anhand der Literatur)

Paramphistomum cervi, Zeder 1790 ist ein 6 bis 13 mm langer Saugwurm von rötlichem Aussehen und birnenförmiger, leicht gekrümmter Gestalt (SEYFARTH, 1938; NÄSMARK, 1937). Er parasitiert zwischen den Pansenzotten von Haus- und Wildwiederkäuern (ODENING, 1978). Zur Entwicklung benötigt der Pansenegel eine Zwischenwirtschnecke, in der sich die aus den Eiern geschlüpften Mirazidien zu Zerkarien entwickeln. Diese verlassen die Schnecke und enzystieren sich als Metazerkarien an Gräsern und werden vom Endwirt aufgenommen (KRANEBURG, 1977). Die Entwicklung im Endwirt erfolgt in zwei Phasen. Zunächst parasitieren die juvenilen Würmer im Dünndarm und wandern von dort submukös zum Pansen, wo sie zu geschlechtsreifen Parasiten heranreifen. Neben *Paramphistomum cervi* gibt es eine Vielzahl anderer *Paramphistomum*-arten, die anhand verschiedener morphologischer Merkmale (Mund- und Bauchsaugnapf, Verlauf des Gabeldarms, spezifische Lappung der Hoden, Ausbildung des Genitalatriums) und durch ihre Zwischenwirtspezifität unterschieden werden können.

Pansenegel werden vor allem in Asien, Afrika, in der UDSSR, in Osteuropa und in Mittelmeerländern gefunden. Die meisten Untersuchungen stammen aus diesen Gebieten. Schon 1943 fand GUPTA in Indien bei Büffeln und Ochsen *Paramphistomiden*, wobei vor allem *P. cervi* neben *P. crassum* und *P. explanatum* weit verbreitet sind. DINNIK (1954, 1961), der sich besonders intensiv mit der Pansenegelforschung in Afrika beschäftigte, kam zu dem

Ergebnis, daß *P. microbothrium* neben *P. phillerouxi*, *P. daubneyi* und *P. sukumum* die größte Rolle bei Rindern spielen. HORAK (1967) nahm das massenhafte Auftreten von *P. microbothrium* bei Schafen in Südafrika zum Anlaß, ausführlich über die Biologie und die Pathogenität dieser Parasiten zu berichten. *P. cervi* ist in Pakistan von Bedeutung, wo YUSSUF (1970) bei 21 von 102 geschlachteten Rindern eine Infektion fand. Berichte von Paramphistomiasen in der UDSSR stammen von TSVETEVA (1959) und von KOZAKIEWICZ (1980). In Australien fand BORAY (1959) *P. cervi* bei Rindern und Schafen.

Auch in Europa, insbesondere in den Mittelmeerländern wird von Pansenegeln berichtet. SEY (1974) beschrieb in Ungarn das Vorkommen von *P. daubneyi* (nur beim Rind) und von *P. ichikawai* und *P. leydeni* (vor allem beim Schaf). *P. microbothrium* wurde bei Büffeln in Jugoslawien (PAVLOVIC, 1975) und bei Rindern auf Sardinien (REINHARDT, 1969) und in Israel (LENGY, 1960) beschrieben. *P. cervi* schließlich wurde von WILLMOT (1950) in England und Irland bei Rindern zusammen mit *P. hibernatum* und *P. scotiae* gefunden. PAV (1962) entdeckte *P. cervi* in der CSSR bei *Cervus elaphus*, *Dama dama*, *Capreolus capreolus*; auch in Rumänien wurde *P. cervi* gefunden (SEY, 1978).

Über das Vorkommen des Pansenegels in Deutschland liegen nur wenige Veröffentlichungen vor. FISCHOEDER fand schon 1903 am Schlachthof von Königsberg bei 50% der Rinder Paramphistomiden. SZIDAT (1937) entdeckte bei Rositten in Planorbis planorbis Zerkarien, die sich als Zerkarien von *P. cervi* erwiesen. SEYFARTH (1938) beschrieb massiven *P. cervi*-Befall bei Jungrindern bei Hamburg. GOTTSCHALK (1963) berichtete von befallenen

Rinderbeständen bei Gera und Erfurt. ODENING (1978) erwähnte Funde von *P. cervi* bei Rind, Reh und Rothirsch in der DDR vor allem in den Nordbezirken und bei Potsdam. Schließlich fand KRANEBURG (1977) *P. cervi*-Befall bei einem Rind in der Gegend um München; 1978 stellte er in 3 norddeutschen Marschgebieten bei 47 von 79 untersuchten Beständen *P. cervi* fest.

Die etwa $160 \times 180 \mu\text{m}$ großen Eier entwickeln sich nur im kotfreien Milieu (SWART und REINECKE, 1962; KRANEBURG, 1977; ODENING 1978). Die Entwicklungszeit ist temperaturabhängig. DINNIK (1954) gab für *P. microbothrium* 14- 16 Tage bei $26 - 28^{\circ}\text{C}$ an; damit stimmt er mit SWART und REINECKE (1962) und REINHARDT (1969) überein, die 12 Tage bei 27°C bzw. 28°C ermittelten. Nach KRANEBURG (1977) dauert die Entwicklung bei 15°C 30 - 50, bei 20°C 18 - 22, bei 26°C 10 - 12 und bei 30°C 6 Tage. Unter 10°C erfolgt keine Entwicklung. ODENING (1979) bestätigte diese Angaben.

KRANEBURG (1977) sah in Licht und Wärme die Hauptreize, welche die Mirazidien von *P. cervi* zum Schlüpfen veranlassen. Auch ODENING (1979) erwähnte den Lichteinfluß als Kardinalreiz. REINHARDT (1969) stellte neben der Temperatur und dem starken Lichtreiz auch eine plötzliche Veränderung des pH-Wertes als schlupf-auslösenden Faktor bei Eiern von *P. microbothrium* fest.

Bei den Mirazidien von *P. cervi* handelt es sich um $200-240 \times 55-75 \mu\text{m}$ große Wimperlarven von gedrungener kegelförmiger Gestalt. Aktivität und Lebensdauer hängen stark von der Temperatur ab. KRANEBURG (1977) stellte fest, daß einzelne Mirazidien bis zu 40 Stunden bei -4°C lebensfähig sind, aber kaum Bewegung zeigen; sie bewegen sich aber bei 30°C lebhaft und bleiben nur 4-5

Stunden am Leben. Dunkelheit wirkte ebenfalls aktivitätshemmend, verlängerte aber die Lebensfähigkeit.

DINNICK (1954) stellte fest, daß die Mirazidien von *P. microbothrium* nach dem Schlupf geradeaus schwimmen und die Richtung nur ändern, wenn sie auf ein Hindernis treffen. Ist eine Zwischenwirtschnecke anwesend, versammeln sie sich bald um sie und dringen in der Regel während der ersten Stunde in sie ein. Wie REINHARDT (1969) beobachtete, zeigen die Mirazidien von *P. microbothrium* nach dem Schlupf zunächst eine spiralförmige, meist schräg nach oben zielende Bewegung, der in der anschließenden halben Stunde ein zielloses Umherschwimmen im Wasser folgt; dann führen sie intensive Such- und Einbohrbewegungen aus. Das Eindringen in den Zwischenwirt findet besonders leicht in der Mantelhöhle statt, wie es LENGY (1960) beobachten konnte.

In Europa sind zwei Schneckengattungen als Zwischenwirte für Pansenegel nachgewiesen worden. Nördlich der Alpen sind es verschiedene Planorbisarten, in Sardinien Bulinusarten. Diese haben in Afrika ihr Hauptverbreitungsgebiet und dienen vor allem *P. daubneyi* und *P. microbothrium* als Zwischenwirt (REINHARDT, 1970). KRANEBURG (1977) konnte einheimische Planorbisarten experimentell infizieren. Die Infektion gelang bei *Planorbis planorbis*, *Anisus vortex*, *Anisus leucostomus*, *Bathyomphalus contortus*, *Hippeutis complanatus* und *Armiger crista*. Nach den Ermittlungen von ODENING (1979) konnten bisher 12 Planorbidaearten als geeignete Zwischenwirtschnecken für *P. cervi* identifiziert werden.

In der Schnecke entwickelt sich das Mirazidium zur Sporozyste, aus der die zweiten Larvenstadien, die

Redien hervorgehen. KRANEBURG (1977) stellte bei *P. cervi* vereinzelt eine dritte Larvengeneration (Tochterredien) fest. ODENING (1979) konnte diese Beobachtung nicht bestätigen. Bei *P. microbothrium* sind Tochterredien die Regel (DINNIK, 1954; REINHARDT, 1969). In den Mutterredien bzw. Tochterredien entstehen Schwanzlarven (Zerkarien), die in 2 Wochen heranreifen; dies ist an der von zwei Augenpunkten ausgehenden tiefbraunen Pigmentierung zu erkennen. Untersuchungen von DINNIK (1954) und KRANEBURG (1977) ergaben, daß die Entwicklungsdauer in der Zwischenwirtschnecke temperaturabhängig ist. LENGY (1960) fand, daß Licht der einzige Reiz für das Schwärmen der Zerkarien ist. Die meisten Zerkarien verlassen die Schnecke während der zweiten und dritten Stunde der Beleuchtung. Sie schwimmen ein bis drei Stunden lebhaft und sammeln sich an der Wasseroberfläche. Dann enzystieren sie sich (Metazerkarien) unter Abwerfen des Schwanzes an Pflanzen, wobei sie grünlichgelbes Material bevorzugen. Verminderungen der Lichtintensität und der Wassertemperatur führen zu einer Beschleunigung des Enzystiervorganges (DINNIK, 1954; KRANEBURG, 1977; ODENING, 1978).

Nach Aufnahme von Metazerkarien wird die Zystenhülle im oberen Dünndarm der Wiederkäuer fermentativ aufgelöst, die juvenilen Würmer werden frei, bohren sich in die Darmwand ein und wandern in der Submukosa umher. Diese duodenale Phase dauert ca. 1 Monat an, bevor die Trematoden die Rückwanderung in den Pansen antreten. Während der duodenalen Phase entwickelt sich bei starker Infektion eine akute Duodenitis mit wässrigem Durchfall. Dieses Stadium ist schwer als Paramphistomiasis zu diagnostizieren, da noch keine Eier im Kot zu finden sind (REINHARDT, 1970).

In der Literatur finden sich nur wenige Angaben über optimale Schlupfbedingungen für die Mirazidien von *P. cervi* sowie über die Zwischenwirtfindung. Es ist nur bekannt, daß Licht und Wärme sowie eine plötzliche Veränderung des pH-Wertes den Schlupf auslösen. Über den Mechanismus der Zwischenwirtfindung bei Paramphistomiden schrieb lediglich WRIGHT (1960), daß er bei verschiedenen Schneckenpopulationen im Körperschleim unterschiedliche Stoffe nachweisen konnte, die für die Eignung der Schnecke als Zwischenwirt ausschlaggebend waren. Bei anderen Trematoden, die in ihrem Entwicklungszyklus den Paramphistomiden vergleichbar sind, sind Schlupf- und Zwischenwirtfindung seit längerer Zeit Gegenstand detaillierter Untersuchungen. Für *Dicrocoelium lanceatum* hat bereits MATTES (1936) die Bedeutung der pH-Wert-Änderung für einen gemeinsamen Schlupf erkannt. *Fasciola hepatica*-Mirazidien benötigen für den Schlupf pH-Werte zwischen 4,2 und 9,0 (ODENING, 1971). In diesem Zusammenhang wies MITTERER (1975) auf die große Bedeutung des Vorhandenseins von freiem CO₂ hin, was in einer pH-Senkung seinen Ausdruck findet.

Die Zwischenwirtfindung selbst ist ein komplizierter Vorgang, an dessen Aufklärung verschiedene Autoren vor allem an Schistosomen gearbeitet haben. Nach WRIGHT (1959) durchlaufen Mirazidien zunächst eine Phase, die durch schnelle geradlinige Bewegung gekennzeichnet ist und nicht der Zwischenwirtfindung, sondern einer weiten Verteilung im Raum dient. Dadurch wird vermutlich eine zu starke Infektion weniger Schnecken vermieden. MASON und FRIPP (1976) stellten fest, daß frisch geschlüpfte Mirazidien von *Schistosoma mansoni*

ungefähr eine Stunde lang schnell schwimmen, bevor sie dann langsamer werden, oft die Richtung wechseln und schließlich zu einer schlängelnden Zick-Zack-Bewegung übergehen. Auch SALADIN (1979) beobachtete an *Fascioloides magna* und *Megalodiscus temperatus*, daß sich die Mirazidien erst dann der Schnecke gegenüber sensibel zeigen und sie infizieren, wenn sie einige Stunden alt sind.

Nach einer kurzen Verteilungsphase orientieren sich die Mirazidien auf der Suche nach einer Zwischenwirtschnecke an der Schwerkraft und am Licht. Hierzu stellte SALADIN (1979) fest, daß Mirazidien von *Fasciola hepatica* sich fotopositiv und geonegativ verhalten, um ihre amphibisch lebende Zwischenwirtschnecke zu finden; Mirazidien von *Fasciola gigantica* orientieren sich genau umgekehrt, da ihr Zwischenwirt eine Wasserschnecke ist. Es gibt aber auch geographische Unterschiede, wie das Beispiel von *Schistosoma haematobium* zeigt. Diese Mirazidien schwimmen normalerweise nach oben, da ihre Zwischenwirtschnecken unter der Wasseroberfläche an Pflanzenteilen sitzen. Im Irak jedoch existiert ein Stamm, der ausnahmsweise der Schwerkraft folgt, da die hier vorkommende Zwischenwirtschnecke den Bodenschlamm bewohnt. Mirazidien von *Schistosoma haematobium* und *Schistosoma japonicum* können sogar dem saisonbedingten Aufenthaltsort der Schnecke im Wasser folgen, da ihre Foto- und Geotaxis temperaturabhängig ist.

Die Geschwindigkeit der Mirazidien ist nach MASON u. FRIPP (1976) von verschiedenen Umweltfaktoren abhängig. Die Wimperlarven von *Schistosoma mansoni* werden mit zunehmender Temperatur und Lichtintensität schneller. Unabhängig davon ist die Geschwindigkeit in der ersten Stunde nach dem Schlupf am höchsten. Gleiches trifft für die Häufig-

keit der Richtungsänderungen zu. Auch mit zunehmendem pH-Wert steigt die Geschwindigkeit. Zwischen 6,9 und 7,1 allerdings fällt sie ab, um dann bis pH 7,8 wieder anzusteigen.

Heute besteht kein Zweifel mehr, daß am Auffinden des Zwischenwirtes chemotaktische Mechanismen beteiligt sind. Bereits LEIPER und ATKINSON (1915) und FAUST (1924) stellten die Hypothese auf, daß die Mirazidien von *Schistosoma japonicum* auf einen Bestandteil im Schleim ihrer Zwischenwirtschnecke reagieren. CHERNIN (1970) prägte den Begriff „ Miraxone " für Substanzen, die von Schnecken herrühren und Mirazidien anziehen. Nach den Ausführungen von SALADIN (1979) konnten bisher über 30 organische Stoffe als Miraxone identifiziert werden, die aus der Haemolymph, dem Fuß- und Kopfgewebe, dem Schleim und den Faeces von Schnecken oder aus dem Wasser, in dem sich Schnecken befinden, stammen. Aber nicht nur organische Stoffwechselprodukte sollen eine stimulierende Wirkung haben, sondern auch Veränderungen des Ionengleichgewichts im Wasser durch die Schnecken. Einig sind sich jedoch alle Autoren, daß von den Schnecken verändertes Wasser, das in der Literatur als „snail-conditioned-water " (SCW) bezeichnet wird, für die Zwischenwirtsfindung verantwortlich ist. 1965 beschrieb MAC INNIS die Veränderung im Verhalten von Mirazidien von *Schistosoma mansoni* in Gegenwart von Agarblöckchen, die SCW von *Biomphalaria glabrata* enthielten. Die Mirazidien verhielten sich genauso wie in Gegenwart der entsprechenden Zwischenwirtschnecke. Auch durch Auftropfen von reinem SCW auf Mirazidien kann man eine Veränderung ihres Schwimmverhaltens bewirken (CHERNIN, 1970). Als objektives Maß für die anziehende Wirkung des SCW und damit der Schnecke de-

finierte MAC INNIS (1965) die „ contact-with-return " Rate (CWR); es ist dies die Anzahl von Mirazidien, die nach einem ersten Kontakt mit der Schnecke oder dem Agarblöckchen immer wieder zurückkehren. CHERNIN (1970) untersuchte die Faktoren, welche die Wirkung des SCW beeinflussen. Je länger der Schnecke Zeit zur Produktion von SCW gelassen wurde und je größer sie war, desto intensiver war die stimulierende Wirkung. Selbst extreme Situationen, wie Hunger oder Infektion der Schnecke mit Mirazidien, hatten keinen Einfluß auf die Produktion von SCW; nur Temperaturen unter 4°C konnten diese hemmen. Faeces, Haemolymph, Kopf-, Fuß- und Körperextrakt sowie Schleim zeigten keine stimulierende Wirkung. SHIFF und KRIEL (1970) entwickelten zwei Versuchsanordnungen, um die anziehende Wirkung, die von Schnecken ausgeht, nachzuweisen. In einem sogenannten „ Y-maze " konnte das Verhalten der Mirazidien gegenüber von SCW zweier verschiedener Schnecken, das sich in den beiden Schenkeln eines Y-förmigen Gefäßes befand, ausgetestet werden und in einer sogenannten „ 4-armed-choice-chamber ", einem Gefäß mit vier Seitenarmen, konnten die Testsubstanzen zusätzlich mit Blindproben verglichen werden. Ferner stellten sie fest, daß sich die Substanzen mit anziehender Wirkung in der wasserlöslichen Fraktion des SCW befanden, und daß Elektrolyte im SCW nicht für seine Wirkung verantwortlich waren. Die Mirazidien sprachen 330 Minuten nach dem Schlupf noch genauso gut auf SCW an wie 30 Minuten. MAC INNIS (1974) analysierte 19 Aminosäuren im Wasser von *Biomphalaria glabrata* in Konzentrationen, die im Mikromolbereich lagen, und machte diese für die chemotaktische Wirkung verantwortlich. Er verglich die anziehende Wirkung von SCW mit der einer Aminosäurenmischung entsprechend seiner Analyse, und fand

zwischen beiden keinen Unterschied. SPONHOLZ und SHORT (1975) benutzten nicht Agarblöckchen zur Ermittlung der CWR, sondern eine sogenannte " dialysis-membran-chamber ", in der Mirazidien von *Schistosoma haematobium* gegen eine Membran schwammen, durch die SCW von *Biomphalaria glabrata* diffundierte. Die CWR betrug 75%, während sie bei einer Kontrolle ohne SCW nur 8% betrug. Im Gegensatz zu der Auffassung von MAC INNIS (1974), daß vor allem Aminosäuren für die anziehende Wirkung des SCW von *Biomphalaria glabrata* verantwortlich sind, maßen STIBBS und Mitarb. (1976) der Veränderung des Ionen-gleichgewichts durch die Schnecke, die Ca^{++} im Austausch mit Mg^{++} aus dem Wasser entnimmt, wesentlich größere Bedeutung zu. Aber auch der Ammoniakgehalt im SCW spielt möglicherweise eine wichtige Rolle (MASON, 1979). Er stellte im SCW von *Biomphalaria pfeifferi*, dem lokalen Zwischenwirt von *Schistosoma mansoni* in Rhodesien, einen fast doppelt so hohen Ammoniakgehalt wie im SCW von *Bulinus globosus* fest.

Aus der Vielfalt der Theorien über die Biologie der Larvenstadien und die chemotaktische Wirkung sehr unterschiedlicher chemischer Substanzen ist zu ersehen, wie schwierig, aber auch wie notwendig eine weitergehende Untersuchung dieser Zusammenhänge besonders auch für die veterinärmedizinisch wichtigen Trematoden ist.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methoden

Die aus dem Kot einer artifiziell mit *Paramphistomum cervi* infizierten Fleckviehkuh stammenden Paramphistomumeier wurden in einem kombinierten Sedimentations-Siebe-Verfahren angereichert, indem sie nach mehreren Sedimentationen durch Siebe mit 200, 135 und 70 μm Maschenweite gegossen wurden und anschließend aus dem 70 μm Sieb mit Leitungswasser in Petrischalen gespült wurden. Die Petrischalen wurden lichtdicht in Aluminiumfolie verpackt, um einen vorzeitigen schlupfauslösenden Lichtreiz zu vermeiden, und in einem Brutschrank 14 Tage lang bei 26°C bzw. in den letzten 12 Stunden bei 28-30°C bebrütet. Für die weiteren Versuche wurde das über den Eiern stehende Wasser abgegossen und der Bodensatz mit Wasser von entsprechendem pH und einer Temperatur von 26-28°C überschichtet.

Zur Ermittlung der optimalen Schlupftemperatur ließ ich die Mirazidien bei gutem Licht (ca. 5 000 Lux), einem pH von 7,0 und Temperaturen von 10°C, 15°C, 18°C, 26°C und 30°C über 90 Minuten schlüpfen und ermittelte die Schlupfrate.

Zur Bestimmung des für den Schlupf optimalen pH-Wertes wurden durch CO₂-Begasung pH-Werte von 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5 eingestellt und über ein elektro-nisches pH-Steuergerät konstant gehalten. Bei 26°C beleuchtete ich die Eier mit 2 Glühlampen zu je 100 Watt (ca. 5 000 Lux). Im Abstand von 30 Minuten wurden Eier abpipettiert und die Schlupfrate ermittelt. Um den Einfluß der Lichtintensität zu ermitteln, stellte ich die Eier, nachdem ein pH von 7,0 einge-

stellt worden war, in einen Brutschrank mit konstanter Temperatur von 28°C und einer von 60 - 5 000 Lux ge-
leuchten Kaltlichtquelle. Wiederum wurden alle 30 Minuten Proben entnommen.

In allen Fällen wurde in den entnommenen Proben der Schlupfvorgang durch einige Tropfen Formalin (10%ig)
abgebrochen und mindestens 500 Eier ausgezählt. Die Schlupfrate ergab sich aus dem Verhältnis der leeren Eier zu den Eiern, die noch Mirazidien enthielten.

Zu jedem Versuch wurde eine Kontrollprobe angesetzt, in der schon vor Versuchsbeginn die Eier mit Formalin abgetötet worden waren.

Für Versuche zur Zwischenwirtfindung verwendete ich verschiedene Schnecken-Arten (Tabelle 1), die im wesentlichen Wildfänge darstellten.

Tab. 1: Art und Herkunft der untersuchten Schnecken

Schnecken-Art	Herkunft
Planorbis planorbis Stamm Wolfratshausen Stamm Münster	Wildfänge aus Wolfratshausen und Münster
Planorbis corneus	Wildfänge aus Ober- bayern
Lymnea stagnalis	Wildfänge aus Ober- bayern
Biomphalaria glabrata	Laborzucht der Firma Hoechst
Anisus vortex	Wildfänge aus Penz- berg

Die Schnecken wurden in 50 Liter fassenden Aquarien mit gut durchlüftetem entchlortem und ständig mit Aktivkohle gefiltertem Wasser bei 24°C gehalten. Als Futter diente Kopfsalat und Futter nach STANDEN (1951). Die Jungschnecken wurden mit gekochtem Salat und Algen (Chlamydomonas und Scenedesmus) aufgezogen.

Zur Gewinnung der Mirazidien verbrachte ich die schlupfreifen Paramphistomum cervi-Eier in einen 100 ml Meßkolben und füllte bis zur Eichmarkierung mit Wasser (pH 7,0 und 28°C) auf. Nachdem der Bodensatz gut aufgeschüttelt worden war, verblieb das Gefäß ca. 30 Minuten unter einer Lichtquelle mit etwa 5 000 Lux. Bis auf 3 cm des Flaschenhalses verdunkelte ich dann das Gefäß mit Aluminiumfolie und erreichte somit eine Ansammlung der Mirazidien in dem beleuchteten Kolbenhals.

Um das Wirtfindungsverhalten der Mirazidien an verschiedenen geeigneten Schnecken zu vergleichen, wurden aus großen und kleinen Petrischalen (Ø 9 cm bzw. 5,5 cm) unter Verwendung des für Mirazidien nicht toxischen Plastikklebers Revell (DISKO, persönliche Mitteilung) 2 unterschiedliche mehrfach gekammerte Versuchsbehältnisse konstruiert. Beim einen Versuchsbehältnis sind um einen zentralen Raum zwei sich gegenüberliegende, beim anderen vier Nebenkammern angeordnet, die durch schmale, verschließbare Tore zugänglich sind.

Um die Anlockung der Mirazidien durch die spezifische Zwischenwirtschnecke beurteilen zu können, wurde sogenanntes „ snail-conditioned-water " bereitet, indem Schnecken mit einem Gesamtgewicht von 4,2 g (entspricht ca. 50 Planorbis planorbis) mehrmals gespült und anschließend 18 Stunden in 250 ml entchlortem Wasser gehalten wurden.

Das Schwimmverhalten der Mirazidien wurde mit einer Foto-

lupe (Fotomakroskop M400 Wild) als Dunkelfeldfotographie festgehalten. Durch lange Belichtungszeiten (3 - 10 sec) stellten sich die Bewegungen der Mirazidien als weiße Linien dar.

Zur Ermittlung der Infektionsdosis wurden Mirazidien abgezählt und zusammen mit einer kleinen Planorbis planorbis ($\varnothing$ ca. 5 mm) in je ein Fach einer Mikrotiterplatte für 5 Stunden verbracht. Nach 4 und nach 8 Tagen kontrollierte ich den Infektionserfolg, indem ich den äußeren Umgang der Schnecke mit der Lupenvergrößerung auf Sporozysten untersuchte.

Die Reaktion der Schnecke auf die Infektion wurde anhand zwei infizierter Planorbis planorbis-Gruppen im Vergleich mit zwei gleichen, aber nicht infizierten Schneckenpopulationen, die unter gleichen Bedingungen gehalten wurden, ermittelt. Infiziert wurden jeweils 10 Schnecken mit 400 - 500 Mirazidien in einer Petrischale ($\varnothing$ 9 cm) über 5 Stunden. Der Versuch begann 20 - 27 Tage nach der Infektion, da zu diesem Zeitpunkt infizierte Schnecken eindeutig durch das Vorhandensein von Redien identifiziert werden konnten. Die Fertilität der Planorbiden wurde durch Zählung der Eiablagen an den Wänden der Makrolon-Käfige, in denen die Schnecken gehalten wurden, beurteilt.

B. Ergebnisse

1. Die Schlupfrate der Mirazidien

a) Einfluß der Temperatur

Nach Bebrütung von 14 Tagen bei einer Temperatur von 26°C wurde ausgetestet, wie sich ein Wärmereiz von 28 - 30°C über 12 Stunden auf die Schlupfrate auswirkt. Es zeigte sich, daß ein Wärmereiz die Mirazidien verstärkt auf den Schlupf vorbereitet (Tabelle 2). Es war mit 90 % nach 2stündiger Beleuchtung mit 5 000 Lux und bei einem pH von 7,0 ein deutlicher Massenschlupf erfolgt, während ohne Temperaturerhöhung die Schlupfrate langsamer anstieg und auch nach 3 Stunden nur 73 % erreichte.

Tab. 2: Schlupfraten von Paramphistomum cervi-Mirazidien mit und ohne 12stündigem Wärmereiz von 28 - 30°C vor dem Schlupf

Minuten nach Schlupfbeginn	Schlupfrate in %	
	mit Wärmereiz	ohne Wärmereiz
30	3	3
60	52	41
90	87	50
120	90	57
150	92	71
180	96	73

Für alle weiteren Versuche wurde diese Erkenntnis genutzt.

Nicht nur die Temperatur vor dem Schlupf, sondern auch während des Schlupfes ist von Bedeutung. Das Optimum wurde ermittelt, indem ich Eier bei 5 000 Lux, pH 7,0 und verschiedenen Temperaturen zwischen 10 und 30°C über 90 Minuten schlüpfen ließ (Tabelle 3).

Tab.3: Schlupfrate von *Paramphistomum cervi*-Mirazidien in Abhängigkeit von der Temperatur während des Schlüpfens bei 5 000 Lux und pH 7,0

Temperatur °C	Schlupfrate %
10	3
15	3
18	44
22	67
26	94
30	94

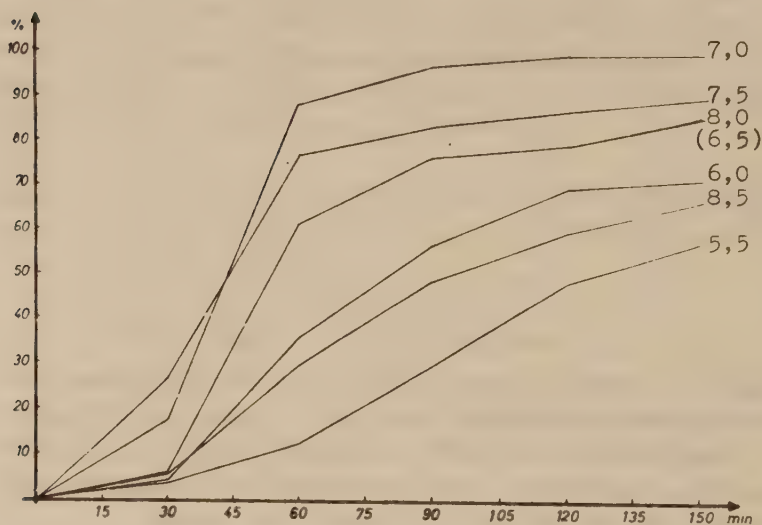
Demnach findet bei Temperaturen unter 15°C, auch wenn die anderen Faktoren optimal sind, kein Schlupf statt; auch bei Temperaturen über 15°C kann noch nicht von einem Massenschlupf gesprochen werden. Bei 26°C herrschen dagegen für den Schlupf optimale Temperaturbedingungen.

b) Einfluß des pH-Wertes

Da die pH-Werte der Gewässer, in welche *Paramphistomum cervi*-Eier gelangen können, sehr unterschiedlich sind, stellt sich die Frage, bei welchem pH-Wert die größte Anzahl von Mirazidien zum Schlupf gelangt, und wie pH-Verschiebungen in den basischen bzw. sauren Bereich die

Schlupfrate beeinflussen. Deshalb wurden über 2 1/2 Stunden Mirazidien bei 26°C, 5 000 Lux und verschiedenen pH-Werten (zwischen 5,5 und 8,5) zum Schlupf gebracht (Abbildung 1).

Abb. 1: Schlupfrate (%) in Abhängigkeit vom pH des Wassers, bei 26°C und 5 000 Lux (die Kurve für pH 6,5 ist mit der von pH 8,0 nahezu identisch)



Die Kurven zeigen, daß das pH-Optimum bei 7,0 liegt. Bei diesem Wert ist nach 1 Stunde bereits der größte Teil der Mirazidien geschlüpft (88 %). Nach 2 1/2 Stunden hatte die Schlupfrate 100 % erreicht, was bei keinem anderen pH-Wert zu erreichen war.

Im sauren und basischen Bereich fallen die Schlupfraten und erreichen auch nach 2 1/2 Stunden nie Werte über 90 %; allerdings wird ein Anstieg in den basischen Bereich besser toleriert als ein Absinken unter pH 7,0. Der Anstieg von pH 7,0 auf pH 8,0 führte zu einem Sinken der Schlupfrate von 100 auf 85 %, die Veränderung von pH 7,0 auf pH 6,0 zu einem Abfallen auf 72 %.

Bei dem für einen Massenschlupf optimalen pH-Wert von 7,0 und auch noch bei den pH-Werten 6,5, 7,5 und 8,0 steigt die Schlupfrate zwischen der 30. und 60. Minute nach Schlupfbeginn steil an, während sich bei den pH-Werten 5,5, 6,0 und 8,5 der Schlupf gleichmäßig über 2 1/2 Stunden hinzieht und nicht über 70 % hinausgeht.

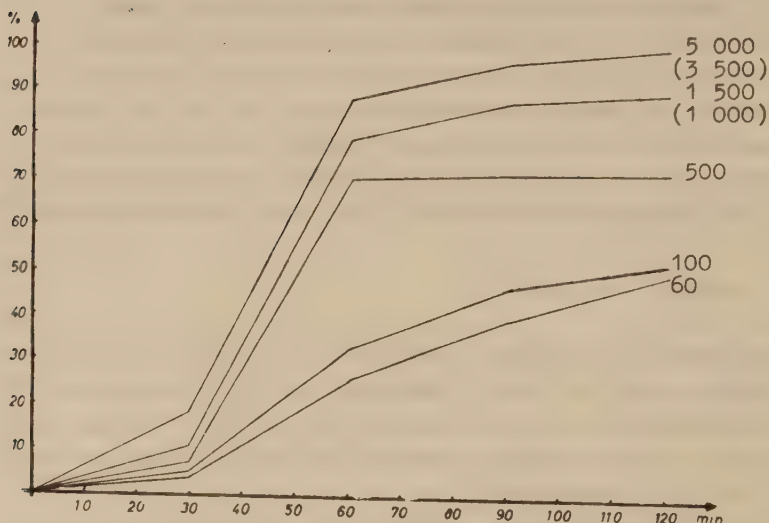
c) Einfluß des Lichtes

Da Licht ein wichtiger schlupfauslösender Faktor ist, stellt sich die Frage, inwieweit die Lichtintensität die Schlupfrate beeinflusst. Bei pH 7,0 und 28°C wurden Eier über 2 Stunden verschiedenen Lichtintensitäten von 60-5 000 Lux ausgesetzt.

Die Abbildung 2 zeigt, daß schon bei 3 500 Lux nach 2 Stunden eine Schlupfrate von 100 % erzielt werden kann, und daß auch bei wesentlich geringeren Lichtintensitäten (1 500, 1 000, 500 Lux) über 70 % der Mirazidien schlüpfen. Erst bei weniger als 100 Lux sinkt der Schlupf unter 50 %.

Noch deutlicher als bei der Abhängigkeit der Schlupfrate vom pH-Wert findet der Hauptschlupf zwischen der 30. und 60. Minute nach Schlupfbeginn statt. Dann steigt er nur noch langsam bis zu einem von der Lichtintensität abhängigen Grenzwert an.

Abb. 2: Schlupfrate (%) in Abhängigkeit von der Lichtintensität (Lux) bei 26°C und pH 7,0 (die Kurven für 1 000 und 3 500 Lux verlaufen fast genauso wie die für 1 500 bzw. 5 000 Lux)



Das vorhergehende Ergebnis beantwortet nicht die Frage, ob die Beleuchtung über die gesamte Schlupfzeit aufrechterhalten werden muß, oder ob nach einem kurzen Lichtreiz von ausreichender Intensität (3 500 Lux) die Mirazidien auch in Dunkelheit schlüpfen.

Um diese Frage zu klären, wurden Paramphistomum cervi-Eier 1 Minute, 5 Minuten, 10 Minuten und 15 Minuten

beleuchtet und anschließend 1 1/2 Stunden in Dunkelheit gehalten. Dann wurden die Schlupfraten ermittelt (Tabelle 4).

Tab. 4: Schlupfrate von *Paramphistomum cervi*- Mirazidien nach kurzen Lichtreizen (3 500 Lux) und 1 1/2 Stunden Dunkelheit

Dauer (Minuten) des Lichtreizes	Schlupfrate %
1	1,5
5	8,5
10	13
15	21

Kurze Lichtreize können keinen Massenschlupf provozieren, auch wenn sie von hoher Intensität sind; es muß über die gesamte Schlupfzeit Licht vorhanden sein.

Wie schon die Blindproben bei den vorhergehenden Versuchen mit Schlupfraten von 1 bis 3,5 % in Dunkelheit sowie Vorversuche, bei denen über lange Zeit bei hohen Temperaturen bebrütet worden war, zeigten, ist auch ohne Beleuchtung ein Schlupf möglich.

Diese Beobachtung wurde überprüft, indem Eier 21, 25 und 30 Tage bei 28 - 30°C bebrütet und dann noch im Dunkeln mit Formalin abgetötet und ausgezählt wurden. Ein Teil der Eier wurde nicht abgetötet und beleuchtet (Tabelle 5).

Tab. 5: Schlupfrate von *Paramphistomum cervi*-Mirazidien nach langer Bebrütungszeit bei 28 - 30°C mit (5 000 Lux) und ohne Beleuchtung

Bebrütungs- zeit Tage	Schlupfrate %	
	ohne Licht	mit Licht
21	61	69
25	73	76
30	78	79

Es kam auch ohne Lichteinfluß eine beträchtliche Anzahl von Mirazidien zum Schlupf. Allerdings sind hierfür extreme Bedingungen (21 - 30 Tage Bebrütung bei 28 - 30°C) nötig. Der Schlupf zieht sich über eine lange Zeit hin; vom 21. bis 30. Tag erhöhte sich die Schlupfrate nur von 61 auf 78 %. Es handelt sich demnach nicht um einen Massenschlupf, wie er bei Beleuchtung innerhalb einer halben Stunde stattfindet.

Durch zusätzliche Beleuchtung konnte das Schlupfergebnis nicht wesentlich verbessert werden. Offensichtlich war ein Teil der Eier durch die lange Bebrütungszeit bei hoher Temperatur abgestorben.

2. Das Verhalten der Mirazidien nach dem Schlupf- Zwischenwirtfindung

a) Subjektive Beobachtungen

Nachdem die Mirazidien 10 Minuten der schlupfauslösenden Beleuchtung ausgesetzt sind, beginnen sie sich in den Eiern zu bewegen. Nach 15 Minuten sind die ersten Wimperlarven geschlüpft. Ungefähr nach 30 Minuten werden ca. 200 - 300 Minuten alte Mirazidien abpipettiert und über 6 Stunden beobachtet (Stereolupe, Vergrößerung $6,3 \times 10$).

In der ersten Stunde schwimmen die Mirazidien mit hoher Geschwindigkeit (durchschnittlich $3,1 \text{ mm / sec}$) durch das Wasser und streben auf geraden Bahnen den Grenzflächen zu. Dort angelangt vollführen sie ein bis zwei Schlängelbewegungen und bewegen sich dann sofort in einer neuen Richtung weiter. In der $1/2 \text{ cm}$ hoch mit Wasser gefüllten Petrischale kommt ein ständiges Auf- und Abpendeln zwischen der Wasseroberfläche und dem Bodenzustande. Wenn die Mirazidien die Wand erreicht haben, bewegen sie sich meistens an dieser entlang weiter, so daß sie sich bald zu einem großen Teil im Randbereich der Petrischale befinden. An anderen Hindernissen, z.B. Pflanzenteilen aus dem Rinderkot, verhalten sie sich wie an der Wasseroberfläche oder an dem Petrischalenboden. Auch an einer geeigneten Zwischenwirtschnecke ändern die Mirazidien ihr Verhalten nicht. Gegen Ende der ersten Stunde allerdings werden die Schlängelbewegungen an der Schnecke deutlicher (Tabelle 6).

Tab. 6: Übersicht über die subjektiven Beobachtungen von Bewegungsmustern von Paramphistomum cervi-Mirazidien

Zeit	Geschwindigkeit	Bewegungsmuster	Verhalten an Hindernissen	Verhalten an der Schnecke
bis 1 Std.	sehr schnell $\varnothing$ 3,1 mm/sec	geradlinige Bahnen, Auf-u.Abpendeln zwischen der Wasseroberfläche und dem Boden, Richtungsänderungen nur bei Hindernissen	1-2 Schlängelbewegungen, dann sofort wieder lineare Bewegungen in eine neue Richtung	Erst wie an anderen Hindernissen, später längeres Verweilen mit mehreren Schlängelbewegungen
2. Std.	etwas langsamer, $\varnothing$ 2,4 mm/sec	geradlinige Bahnen vermehrt an der Wasseroberfläche, Richtungsänderungen auch ohne Hindernis	mehrere Schlängelbewegungen und Kreisbewegungen mit längerem Verweilen, dann lineare Wegbewegung	nur wenige Mirazidien verlassen die Schnecke nach Kontakt wieder
3. Std.	deutlich langsamer, große Unterschiede 1-3 mm/sec	wellenförmige Bahnen fast ausschließlich an der Wasseroberfläche, häufige Richtungsänderung	mehrere Schlängelbewegungen und Kreisbewegungen mit längerem Verweilen, dann lineare Wegbewegung	Mirazidien verlassen einen sich ausdehnenden Bereich um die Schnecke nicht mehr

In der zweiten Stunde zeigen die Mirazidien ein etwas langsames (2,4 mm / sec) lineares Schwimmverhalten und ändern jetzt auch ohne Kontakt mit einem Hindernis die Richtung. Wenn sie auf ein Hindernis treffen, verweilen sie länger in Schlängelbewegungen und beschreiben jetzt auch kleine Kreis- und Spiralbahnen. Die Wimperlarven sind vermehrt in den oberen Schichten des Wassers zu finden. Wenn sie an die Wasseroberfläche stoßen, sinken sie unter spiralförmigen Bewegungen in die Tiefe, um dann sofort wieder geradlinig schräg nach oben zu streben. Eine geeignete Zwischenwirtschnecke wird von den Mirazidien in Schlangenlinien, Spiralbahnen und Kreisen umschwommen; nur wenige verlassen die Schnecke wieder, um sich auf eine gerade Bahn zu begeben.

In der dritten Stunde hat sich die Geschwindigkeit der Mirazidien weiter verlangsamt. Die einzelnen Wimperlarven bewegen sich jetzt sehr unterschiedlich schnell durch das Wasser (zwischen 1 und 3 mm /sec). Lineare Vorwärtsbewegungen sind fast vollständig von wellenförmigen Bahnen abgelöst worden. Die Mirazidien verweilen länger und mit noch deutlicheren Schlängel-, Spiral- und Kreisbewegungen an Hindernissen. Eine Zwischenwirtschnecke wird nur in den seltensten Fällen verlassen (Tabelle 6). In der vierten und fünften Stunde nimmt die Geschwindigkeit weiter ab; nach sechs Stunden ist keine Bewegung mehr zu erkennen.

b) Dunkelfeldfotographie

Um beobachten zu können, wie das Schwimmverhalten der Mirazidien durch die Anwesenheit spezifischer, wenig geeigneter und nicht geeigneter Zwischenwirtschnecken bzw. durch deren stimulierende Substanzen in Form von „ snail-conditioned-water " (SCW) beeinflusst wird, wurden Wimperlarven eine halbe Stunde nach dem Schlupf mit Schnecken bzw. deren SCW zusammengebracht und ihre Schwimmbahnen photographisch festgehalten. Diese Versuche erfolgten an *Planorbis planorbis*, *Anisus vortex*, *Lymnea stagnalis*, *Planorbis corneus* und *Biomphalaria glabrata*.

Zwischen der 30. und 60. Minute nach dem Schlupf bewirkte die Anwesenheit von Schnecken keine Veränderung des Schwimmverhaltens der Mirazidien. Sie bewegten sich mit hoher Geschwindigkeit auf geraden Bahnen; diese werden durch kurze Schlängel- und Spiralbewegungen dann unterbrochen, wenn sie auf die Schnecke treffen. Sie verlassen die Schnecke sofort wieder und gehen auf geraden Kurs (Abbildung 3 a und b). Die Mirazidien reagieren somit auf die Schnecke genauso wie auf jedes andere mechanische Hindernis (Pflanzenteile, Wasseroberfläche, Boden der Petrischale). Erst etwa 1 Stunde nach dem Schlupf verlangsamten sich ihre Bewegungen; es sind deutliche Unterschiede zwischen dem Verhalten an verschiedenen Schnecken zu erkennen.

Bei Anwesenheit von *Planorbis planorbis* konnte schon bald festgestellt werden, daß sich die Mirazidien in immer stärkerem Maße bei der Schnecke aufhalten. Anfangs verlassen sie zwar die Schnecke nach Kontakt wieder, gehen aber nicht mehr in eine lineare Bewegung über, sondern bewegen sich unter ständigen Richtungsänderungen in unmittelbarer Nach-

barschaft zur Schnecke. Auch sieht man, daß ein Kontakt mit der Schnecke für diese Verhaltensänderung gar nicht mehr nötig ist, sondern daß Mirazidien, die in gerader Bahn auf die Schnecke zuschwimmen, schon vor der Schnecke abrupt ihr Schwimmverhalten ändern, in engen Kreisen und Spiralen suchend hin- und herschwimmen und die Umgebung der Schnecke nur in seltenen Fällen wieder verlassen. Der Bereich um die Schnecke, in welchem die Mirazidien ihr Verhalten verändern, wird immer größer; anscheinend diffundieren die chemotaktisch wirksamen Substanzen rasch in die Umgebung. Später halten sich die Mirazidien in engster Nachbarschaft zur Schnecke auf; der übrige Bereich der Petrischale ist fast vollständig entvölkert. Eine gezielte Vorwärtsbewegung ist nicht mehr festzustellen; die Mirazidien „tanzen“ in spiraligen, kreisenden Bewegungen am Ort hin und her und stoßen wiederholt an die Schnecke. Manche verharren kurze Zeit in völliger Ruhe, wenn sie auf Kopf- und Fußgewebe der Schnecke gestoßen sind. Auch wenn sich die Schnecke bewegt, bleibt die Masse der Mirazidien in engem Kontakt zu ihr (Abbildung 3 c, d und e; Abbildung 4 a).

An Anisus vortex zeigen die Mirazidien ein ähnliches, aber nicht so deutliches Verhalten. Im Anziehungsbereich der Schnecke bewegen sie sich ebenfalls in wellenförmigen, spiralförmigen und kreisenden Bahnen, sind aber auch nach längerer Zeit bereit, die Nachbarschaft der Schnecke zu verlassen und wieder linear zu schwimmen (Abbildung 4 b).

Die Schneckenarten Lymnea stagnalis, Planorbis corneus und Biomphalaria glabrata veränderten das Schwimmuster der Mirazidien nicht. Die Wimperlarven verhielten sich an diesen Schnecken wie an anderen Hindernissen auch. Sie entfernten sich nach wenigen Schlängelbewegungen in gerader Bahn von der Schnecke weg (Abbildung 4 c).

Abb. 3: Schwimmverhalten von *Paramphistomum cervi*-
Mirazidien

- a Normales Schwimmverhalten der Mirazidien
(Vergrößerung 10 x 6.3, Belichtung ca.
8 Sekunden)
- b Während der ersten Stunde nach dem Schlupf
wird die Bahn einer Wimperlarve (Pfeil)
durch *Planorbis planorbis* nicht beeinflußt
(Vergrößerung 10 x 6.3, Belichtung ca.
8 Sekunden)
- c-e Veränderung des Schwimmverhaltens der Mi-
razidien während der zweiten Stunde in An-
wesenheit von *Planorbis planorbis* (Ver-
größerung 10 x 6.3, Belichtung ca. 8 Se-
kunden bzw. Vergrößerung 10 x 10, Belich-
tung 3 Sekunden bei e

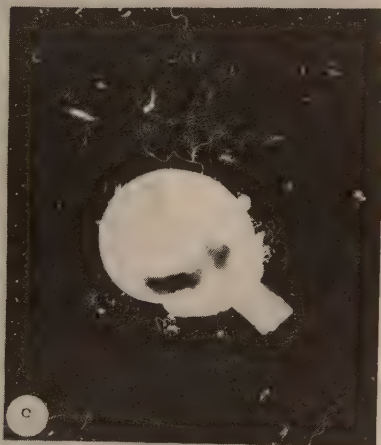
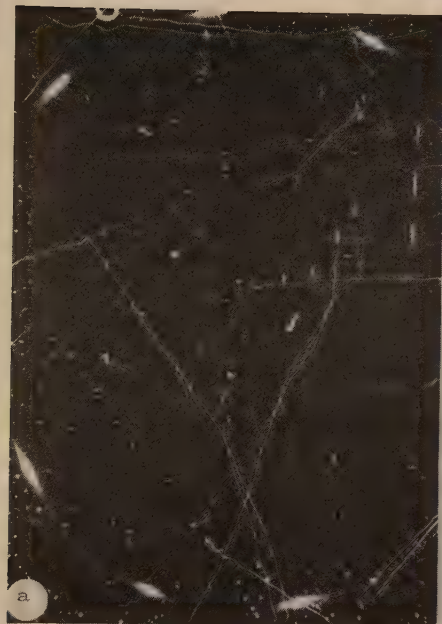


Abb. 3

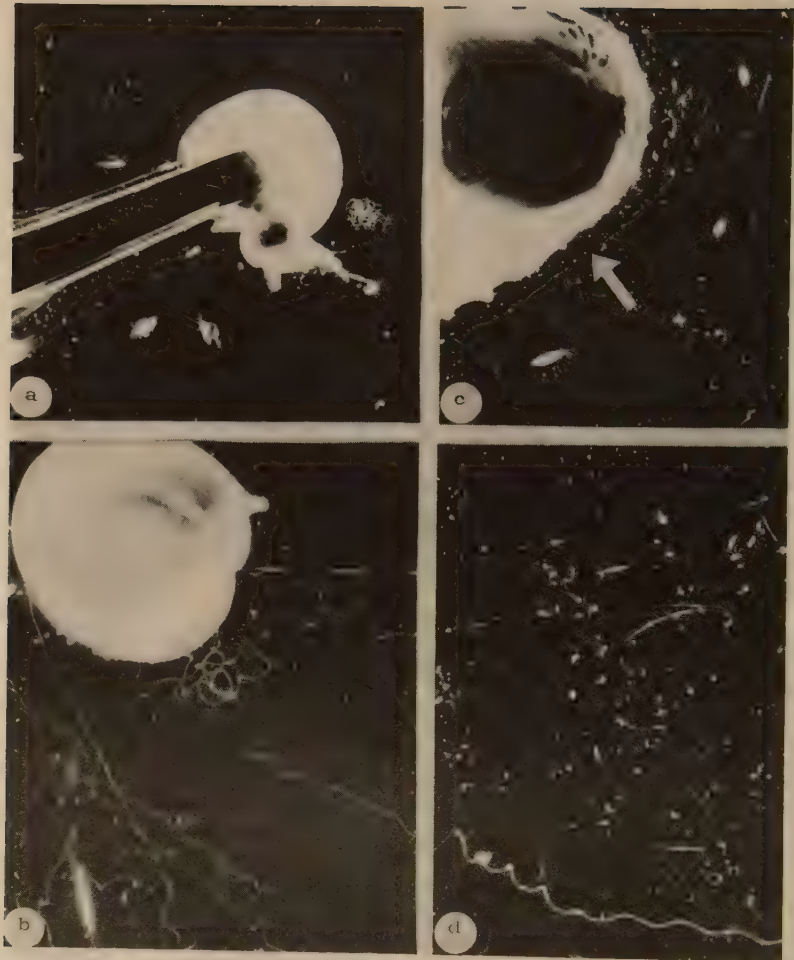


Abb. 4: Schwimmverhalten von *Paramphistomum cervi*-Mirazidien

- a Knäuelartige Bahnen von Mirazidien an *Planorbis*
- b Veränderung des Schwimmusters durch *Anisus* vortex
- c Die Bahn eines Mirazidium (Pfeil) wird durch *Biomphalaria glabrata* nicht verändert
- d Veränderung des Schwimmverhaltens durch SCW
(Belichtungszeit jeweils 8 sec, Vergrößerung
a und c 10x63, b und d 10x63)

Die Feststellung, daß der Bereich um die Schnecke, in dem die Mirazidien ihr Verhalten ändern, sich im Laufe der Zeit ausdehnt, spricht dafür, daß die Mirazidien auf Stoffwechselprodukte, welche die Schnecke ins Wasser abgibt, ansprechen. Es stellte sich die Frage, ob auch SCW allein das Schwimmverhalten der Mirazidien beeinflussen kann. Hierzu wurde ein Tropfen (0,1 ml) SCW auf Mirazidien in einer Petrischale aufgetropft.

In der ersten Stunde nach dem Schlupf werden die Mirazidien nicht durch die Anwesenheit von SCW beeinflusst. Sie zeigen lediglich an der Stelle, an der SCW aufgetropft wird, ein kurzes Schlängeln und schwimmen dann sofort wieder linear weiter. Das Auftropfen von Leitungswasser zur Kontrolle zeigt dieselbe Wirkung.

Mirazidien, die älter sind als 60 Minuten, reagieren auf das SCW genauso wie auf die entsprechende Schnecke. SCW von *Planorbis planorbis* führt sofort nach dem Eintropfen zu starken Schlängel- und Kreisbewegungen. Die Mirazidien versammeln sich schnell an der Stelle, an der der Tropfen ins Wasser gelangt ist (Abbildung 4 d und 5 a). Auch SCW von *Anisus vortex* veranlasste die Mirazidien zu einer gewissen andauernden Veränderung im Schwimmverhalten, die der bei SCW von *Planorbis planorbis* ähnelt, aber nicht so ausgeprägt ist. Das SCW der anderen Schneckenarten (*Lymnaea stagnalis*, *Biomphalaria glabrata*, *Planorbis corneus*) führte lediglich unmittelbar beim Auftropfen zu kurzen Schlängel- und Kreisbewegungen. Die Mirazidien wurden offensichtlich durch die Turbulenz im Wasser durch den SCW-Tropfen kurzzeitig irritiert.

Mit Agarblöckchen, die aus SCW hergestellt wurden, konnte

auch bei Verwendung von SCW von *Planorbis planorbis* und *Anisus vortex* keine Veränderung des Schwimmverhaltens der vor 60 Minuten geschlüpften Mirazidien erzielt werden. Sie reagierten wie auf jedes andere Hindernis auch (Abbildung 5 b). Somit ist die Vermutung berechtigt, daß das SCW durch die Erhitzung bei der Agarherstellung seine Wirkung verloren hat.

Zusammenfassend können grundsätzlich drei verschiedene Bewegungsmuster unterschieden werden:

1. Die Mirazidien schwimmen völlig geradlinig, wenn keine stimulierenden Faktoren im Wasser vorhanden sind;
2. An einem Hindernis (Pflanzenteile, Boden der Petrischale, Wasseroberfläche, nicht als Zwischenwirt geeignete Schnecke) bewegen sie sich kurzzeitig in Schlangenlinien, um sich dann wieder linear fortzubewegen;
3. An der Stelle, von der eine stimulierende Wirkung ausgeht, versammeln sich die Wimperlarven und vollführen in engen Kreisen oder Spiralen tanzende Bewegungen, was sich in der Dunkelfeldfotographie bei langer Belichtungszeit als knäuelartige Bahnen darstellt.

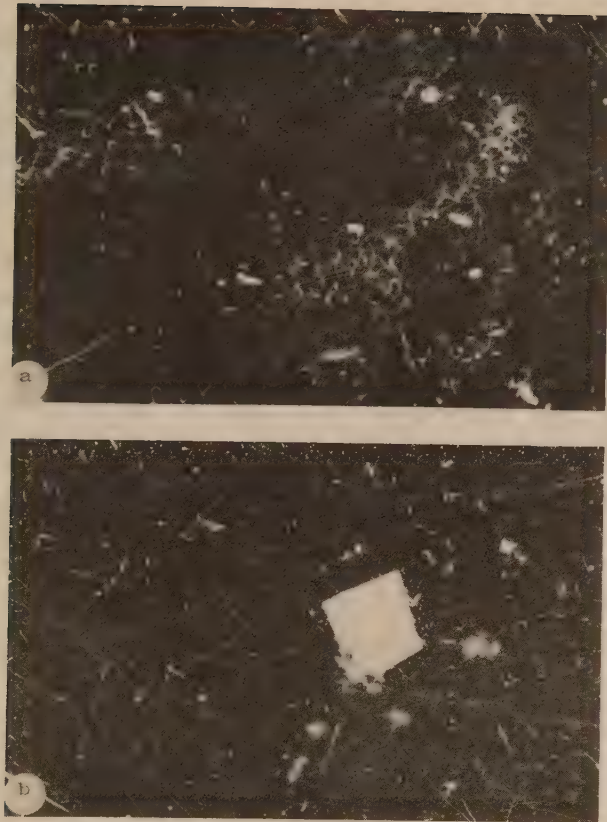


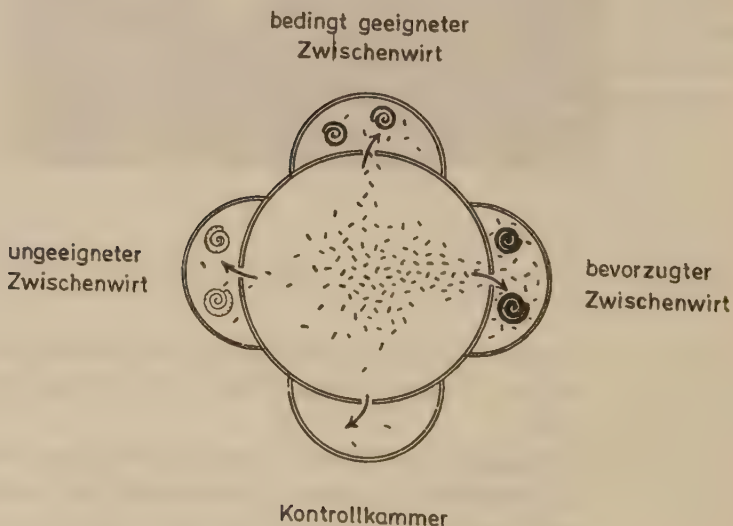
Abb. 5: Schwimmverhalten von *Paramphistomum cervi*-Mirazidien

- a Verändertes Schwimmverhalten nach Eintropfen von SCW (Vergrößerung 10x8, Belichtungszeit ca. 8 sec)
- b Die Anwesenheit eines Agarblöckchens aus SCW von *Planorbis planorbis* beeinflußt das Schwimmverhalten der Mirazidien nicht (Vergrößerung 10x6.3, Belichtungszeit ca. 8 sec)

c) Quantitative Aussage

Um die Eignung einer Schnecke als Zwischenwirt nachzuweisen, wurde die anziehende Wirkung auf die Mirazidien auch quantitativ erfaßt. Hierzu dienten Versuchsanordnungen, bei denen die Mirazidien mit verschiedenen Schnecken gleichzeitig zusammengebracht werden konnten. Die Wimperlarven wurden in die zentrale Kammer verbracht. Nach 30 Minuten wurden die Tore mit Gummikeilen verschlossen und die Mirazidien in den Nebenkammern mit 10%igem Formalin abgetötet und gezählt (Abbildung 6). So konnte für jede Schneckenart die Zahl der zur Schnecke gelangten Wimperlarven ermittelt werden (Tabelle 7 und 8).

Abb. 6: Versuchskammer zur Feststellung geeigneter Zwischenwirte für *Paramphistomum cervi*-Mirazidien



Tab. 7: Verteilung der Mirazidien auf die Fächer mit Planorbis planorbis, Anisus vortex und Planorbis corneus

Schnecke	Anzahl der Mirazidien
Planorbis planorbis	159
Anisus vortex	87
Planorbis corneus	37
leer	41

Tab. 8: Verteilung der Mirazidien auf die Fächer mit Planorbis planorbis, Lymnea stagnalis und Biomphalaria glabrata

Schnecke	Anzahl der Mirazidien
Planorbis planorbis	178
Lymnea stagnalis	43
Biomphalaria glabrata	29
leer	38

Die in beiden Tabellen dargestellten Ergebnisse zeigen, daß *Planorbis planorbis* die größte Anziehung auf Mirazidien ausübte. Die Anzahl der Mirazidien bei *Planorbis planorbis* ist mit 159 bzw. 178 am höchsten. Auch *Anisus vortex* (87) übt einen gewissen Einfluß auf die Mirazidien aus.

Bei *Planorbis corneus*, *Lymnea stagnalis* und *Biomphalaria glabrata* liegen die Ergebnisse ungefähr bei denen der Kontrollkammern. Zu diesen Schnecken gelangten die Wimperlarven somit nur rein zufällig.

Diese Ergebnisse werden auch durch den direkten Vergleich zweier Schneckenarten in einer Versuchsanordnung mit zwei Nebenkammern bestätigt (Abbildung 8 , Tabelle 9).

Abb. 8: Versuchskammer zur Findung der bevorzugten Zwischenwirtschnecken für *Paramphistomum cervi*-Mirazidien



Tab. 9: Verteilung der Mirazidien von Paramphistomum cervi (in zwei Nebenkammern) bei Anwesenheit von zwei verschiedenen Schneckenarten

Schnecken-Arten	Verteilung der Mirazidien auf die Nebenkammern
Planorbis : Anisus vortex	148 : 79
" : Planorbis corneus	184 : 19
" : Lymnea stagnalis	196 : 11
" : Biomphalaria glabrata	208 : 9
Anisus vortex : Planorbis corneus	102 : 15
" : Lymnea stagnalis	86 : 13
" : Biomphalaria glabrata	92 : 10
ohne Schnecken	9 : 12

Planorbis planorbis hatte gegenüber Anisus vortex fast doppelt so viele Mirazidien und gegenüber Planorbis corneus, Lymnea stagnalis und Biomphalaria glabrata sogar zwischen 10 und 20 mal so viele Wimperlarven um sich versammelt. Auffallend, aber nicht ganz so deutlich wie bei Planorbis planorbis war auch die Überlegenheit von Anisus vortex über die anderen Schneckenarten.

3. Infektion der Zwischenwirtschnecke mit Mirazidien

a) Erforderliche Infektionsdosis

Bevor die Reaktion der Schnecke auf die Infektion mit Mirazidien beobachtet werden kann, stellt sich die Frage, wieviele Wimperlarven für eine sichtbare Infektion nötig sind. Bei einer deutlichen Infektion sind nach 5 - 10 Tagen mindestens 2 Sporozysten im äußeren Umgang im Gewebe der Atemhöhle zu finden.

Auf engstem Raum (Fächer einer Mikrotiterplatte) wurden kleine *Planorbis planorbis* ($\varnothing$ 5 mm) mit abgezählten Mengen von maximal 30 Minuten alten Mirazidien über 5 Stunden infiziert. Die Auswahl nur junger Schnecken erfolgte, weil bei ihnen wegen der dünnen Schale die Infektion besonders gut zu erkennen ist. Dabei wurden 1 - 30 Mirazidien als Infektionsdosen gewählt (Tabelle 10).

Tab. 10: Optimale Infektionsdosen (*Paramphistomum cervi*-Mirazidien) für *Planorbis planorbis*

Mirazidien-Zahl pro Schnecke	von 8 Schnecken waren	
	infiziert	nicht infiziert
1	0	8
5	0	8
10-12	3	5
15-20	6	2
25-30	8	0

Die Infektionsdosis liegt somit bei 25 - 30 Mirazidien. Bei weniger Mirazidien pro Schnecke ist nicht mehr gewährleistet, daß alle Schnecken infiziert werden.

b) Reaktion der Schnecke auf die Infektion

Die Reaktion von *Planorbis planorbis* auf die Infektion mit *Paramphistomum cervi*-Mirazidien habe ich untersucht, indem ich über längere Zeit die Entwicklung zwei infizierter Schneckenpopulationen mit jeweils einer gleich starken, nicht infizierten Kontrollgruppe gleich großer Schnecken ($\varnothing$ 0,8 - 1,2 mm) verglichen habe. In regelmäßigen Abständen wurden die Anzahl der Eiablagen, die toten Schnecken sowie die Entwicklung der Parasitenlarven im Zwischenwirt erfaßt. Diese Versuche wurden mit jeweils 25 Schnecken bei 24°C und 55 Schnecken bei 20°C durchgeführt (Tabelle 11 und 12). Bei den 55 Schnecken wurde auch die durchschnittliche Gewichtsentwicklung berücksichtigt.

Die Infektionsrate betrug bei beiden infizierten Gruppen um 30 %; in einem Fall konnten von 80 Schnecken 25 (31 %) und im anderen von 180 Schnecken 55 (30,5 %) infiziert werden.

Tab.11: Vergleich einer infizierten mit einer nicht infizierten Schneckenpopulation von jeweils 25 Schnecken bei 24°C

Tage p.i.	infizierte Gruppe		nicht infiz. Gruppe	
	Zahl d. Eiab- lagen	besondere Be- obachtungen	Zahl d.Eiab- lagen	besondere Be- obachtungen
27		Versuchsbe- ginn		Versuchsbe- ginn
30	16	25 Schn.inf.	18	--
33	25	" "	28	--
36	36	" "	41	--
39	15	1 Schn.nicht mehr inf.	23	--
42	22	" "	32	--
45	15	5 Schn.nicht mehr inf., 19 mit reifen Zerkarien	39	--
48	16	2 Schn.tot, 18 mit reifen Zerkarien	37	--
51	16	" "	39	1 Schn. tot
54	11	6 Schn.tot, 14 mit reifen Zerkarien	35	"
Summe	172	6 Schn.tot, 14 mit reifen Zerkarien, 5 Schn.nicht mehr inf.	292	1 Schn. tot

Tab.12: Jeweils 55 Schnecken bei 20°C

Tage p.i.	infizierte Gruppe		nicht infiz. Gruppe	
	Zahl d. Eiab- lagen	besondere Be- obachtungen	Zahl d. Eiab- lagen	besondere Be- obachtungen
20		Versuchsbe- ginn		Versuchsbe- ginn
24	4	55 Schn.inf.	12	--
27	6	49 Schn.inf. 6 nicht mehr	24	--
31	7	1 Schn.tot, 45 inf., 9 nicht mehr	16	1 Schn.tot
34	4	" "	7	2 Schn.tot
37	2	3 Schn.tot, 39 inf., 13 nicht mehr	11	"
40	3	" "	10	"
43	6	" "	14	"
46	8	6 Schn.tot, 35 inf., 14 nicht mehr	18	"
49	5	" "	12	3 Schn.tot
52	4	6 Schn.tot 31 mit reifen Zerkarien, 18 nicht mehr inf.	9	"
55	2	" "	14	"
58	5	8 Schn.tot 29 mit reifen Zerkarien, 18 nicht mehr inf.	19	"
Summe	56	" "	166	"

Aus beiden Tabellen geht hervor, daß die Reproduktion der Schnecken durch die Belastung der Infektion zurückgeht. Die Zahl der Eiablagen von ca. 10 - 30 Eiern pro Gelege war bei der bei 24°C gehaltenen Gruppe um 41 % und bei der bei 20°C gehaltenen Gruppe sogar um 66 % niedriger als bei der jeweiligen Kontrollgruppe. (Die Eiproduktion infizierter sowie nicht infizierter Schnecken ging allgemein bei niedriger Temperatur zurück).

Eine gewisse Anzahl von Schnecken war in der Lage, die Infektion abzuwehren (20 % bei 24°C und 32 % bei 20°C).

Bei den infizierten Gruppen waren die Todesfälle der Schnecken mit 6 gegenüber 1 bzw. 8 gegenüber 3 höher als bei den nicht infizierten Gruppen. Die toten Schnecken zeigten deutliche Anzeichen einer Infektion.

Die Entwicklung der *Paramphistomum cervi*-Larven in der Zwischenwirtschnecke *Planorbis planorbis* dauerte bei 20°C länger als bei 24°C. Bei 20°C waren erst nach 52 Tagen schlupfreife Zerkarien festzustellen, während bei 24°C die Entwicklung im Zwischenwirt schon nach 45 Tagen abgeschlossen war.

Bei der infizierten Gruppe mit 55 Schnecken betrug das Gewicht pro Schnecke im Durchschnitt 69,1 mg und bei der Kontrollgruppe 71,2 mg. Nach 56 Tagen hatte sich das Gewicht einer infizierten Schnecke auf 100,4 mg und einer nicht infizierten auf 90,5 mg erhöht. Somit haben die infizierten Schnecken während der Beobachtungszeit im Durchschnitt 31,3 mg und die nicht infizierten Schnecken 19,3 mg pro Schnecke an Gewicht zugenommen.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Es hat sich gezeigt, daß die Temperatur, der pH-Wert des Wassers sowie die Lichtintensität den Schlupfvorgang wesentlich beeinflussen. Es schlüpfen zwar auch Mirazidien, wenn diese Parameter nicht optimal sind, aber in geringerer Anzahl und über eine längere Zeit, sodaß eine starke Infektion vieler Schnecken und somit die Ausschüttung einer großen Zerkarienmenge nicht gewährleistet sind. Für den massiven Pansenegelbefall eines Jungrindes sind z.B. mindestens 10 000 Metazerkarien nötig (KRANEBURG und BOCH, 1978).

Nach meinen Untersuchungen erfolgt ein Massenschlupf, das heißt eine Schlupfrate von über 90 % während einer Zeit von maximal 1 1/2 Stunden, bei einer Temperatur von 26 - 28°C, einem pH-Wert von 7,0 und einer Lichtintensität von 1 000 - 3 500 Lux. Der größte Teil des Schlupfes vollzieht sich dann während der zweiten halben Stunde nach Schlupfbeginn, sodaß hauptsächlich gleich alte Mirazidien zur Infektion der Zwischenwirtschnecke vorliegen.

DINNIK (1954) ermittelte für *Paramphistomum microbothrium*-Mirazidien eine Schlupftemperatur von 26-28°C und KRANEBURG (1977) beobachtete, daß die Mirazidien von *Paramphistomum cervi* schon bei 13°C schlüpfen, wobei sich aber der Schlupf über Wochen hinzieht. Erst bei 22°C konnte er einen Massenschlupf erzielen. Wenn man eine Schlupfrate von 67 % als Massenschlupf bezeichnet, so kann ich die Ergebnisse von KRANEBURG (1977) bestätigen, ebenso wie seine Beobachtung, daß eine plötzliche Temperaturerhöhung den Massenschlupf vorbereitet. Nach meinen Untersuchungen liegen nach einer ausreichend langen Bebrütungszeit (14 Tage bei 26°C) zum größten Teil Eier mit ausgereiften, schlupffähigen Mirazidien neben einer geringen

Anzahl (ca. 10 %) nicht entwickelter Eier vor. Deshalb neige ich zu der Auffassung, daß allein die niedrige Temperatur und nicht der unterschiedliche Reifegrad der Mirazidien, wie es KRANEBURC (1977) vermutete, für die Verzögerung des Schlupfvorganges verantwortlich ist.

Ganz wesentlich wird auch das Schlupfergebnis vom pH-Wert beeinflusst. Das Optimum liegt bei pH 7,0. Es fällt auf, daß ein Anstieg in den basischen Bereich weit aus besser toleriert wird als ein Absinken in den sauren Bereich. Da in der Natur der pH-Wert des Wassers, in das die Eier gelangen können und in dem sich geeignete Zwischenwirtschnecken aufhalten, in der Regel im basischen Bereich liegt, können auch bei pH-Werten über dem Optimum noch ausreichend viele Mirazidien schlüpfen (z.B. über 80 % bei pH 8,0).

Licht ist für einen Massenschlupf eine unbedingte Voraussetzung, wobei allerdings schon geringe Intensitäten ausreichen. Schon bei 1 000 Lux, was ungefähr der Morgendämmerung entspricht, sind nach 2 Stunden fast 90 % der Mirazidien geschlüpft und auch schon bei einer Lichtintensität von 60 Lux, wie sie eventuell in einer klaren Vollmondnacht vorkommt, können über 50 % der Wimperlarven die Eier verlassen.

Ein wesentlicher Grund, daß Pansenegelfall in der BRD relativ selten ist, liegt sicher darin, daß bei den natürlichen Umweltbedingungen optimale Schlupfergebnisse nicht gewährleistet sind. Morgentemperaturen von über 26°C sind hierzulande sehr selten und auch die pH-Werte der Gewässer, in denen geeignete Zwischenwirtschnecken vorkommen, können bedeutend über dem Schlupfoptimum liegen. Die Lichtintensität scheint dagegen kein limitierender Faktor zu sein.

Nach meinen Beobachtungen durchlaufen die Mirazidien von *Paramphistomum cervi* in der ersten Stunde nach dem Schlupf eine Phase, die mehr der gleichmäßigen Verteilung im Raum als der eigentlichen Zwischenwirtfindung dient. Diese Verteilungsphase ist gekennzeichnet durch schnelles (3,1 mm / sec), geradliniges Schwimmen, durch Richtungsänderungen nur an Hindernissen und dadurch, daß die Anwesenheit einer geeigneten Zwischenwirtschnecke bzw. ihrer spezifischen Stoffwechselprodukte noch keine Verhaltensänderung bei den Wimperlarven bewirken kann. Gegen Ende der ersten Stunde nimmt die Geschwindigkeit ab (2,4 mm/sec).

Diese Verteilungsphase wurde auch bei anderen Mirazidien, vor allem bei Schistosomen beschrieben. SHIFF und KRIEL (1970) konnten beobachten, daß 30 - 90 Minuten alte Mirazidien von *Schistosoma haematobium* öfters durch das Blickfeld der Stereolupe schwammen als ältere; MASON und FRIPP (1976) fanden bei denselben Mirazidien ein schnelles (2,33 mm / sec) lineares Schwimmen, das erst gegen Ende der ersten Stunde langsamer wurde (2,00 mm /sec). PRECHEL, CAIN und NOLLEN (1976) stellten bei Mirazidien von *Megalodiscus temperatus* während einer längeren Zeit nach dem Schlupf keine Beeinflussung durch die Zwischenwirtschnecke *Helisoma trivolvis* fest. Ebenso indifferent verhielten sich bei meinen Beobachtungen die Mirazidien von *Paramphistomum cervi* gegenüber *Planorbis planorbis* und *Anisus vortex* während der ersten Stunde.

Die Erkenntnis von MASON und FRIPP (1976), daß die Geschwindigkeit der Mirazidien mit der Temperatur steigt, kann die von mir festgestellte höhere Geschwindigkeit von *Paramphistomum cervi*-Mirazidien erklären. Die Autoren ermittelten die Geschwindigkeit bei 22 - 24°C, ich aber bei 28°C.

Die Beobachtung von DINNIK (1954), daß sich die Mirazidien von *Paramphistomum microbothrium* gleich nach dem Schlupf bei einer Zwischenwirtschnecke sammeln, konnte ich bei *Paramphistomum cervi* nicht machen.

Bei einer Geschwindigkeit von 2,4 - 3 mm / sec können die Mirazidien von *Paramphistomum cervi* während der Verteilungsphase Strecken von mehreren Metern zurücklegen und sich somit sehr weit im Wasser verteilen. Dadurch wird gewährleistet, daß möglichst viele Schnecken mit wenigen Mirazidien infiziert werden. Eine Masseninfektion nur weniger Schnecken würde diese zu stark schädigen und die Entwicklung einer großen Zerkarienmenge einschränken. MEREMINSKI (1970) stellte fest, daß die Verbreitung von *Paramphistomiasen* bei Wiederkäuern wesentlich stärker von der gleichmäßigen Verteilung der Zwischenwirtschnecken in einem Biotop als vom Grad der Infektion der einzelnen Schnecke abhängt. Die anfängliche Verteilungsphase dient also durchaus der optimalen Weiterführung des Lebenszyklus des Parasiten, auch wenn hier das Bestreben , Kontakt mit einer Zwischenwirtschnecke aufzunehmen, noch nicht festzustellen ist.

Nach der ersten Stunde hat die Geschwindigkeit der Mirazidien abgenommen, wie es auch SHIFF und KRIEL (1970) für *Schistosoma haematobium* und MASON und FRIPP (1976) für *Schistosoma mansoni* feststellen konnten. Die Richtungsänderungen finden jetzt auch ohne Kontakt mit einem Hindernis statt. In der dritten Stunde sind keine geraden Bahnen, sondern nur noch wellenförmige Bewegungen festzustellen. Hindernisse werden nicht sofort wieder verlassen, sondern die Mirazidien scheinen mit mehreren Hin- und Herbewegungen zu prüfen, ob es sich um eine spezifische Zwischenwirtschnecke handelt. Ganz offensichtlich

beeinflussen jetzt auch Licht und Schwerkraft das Verhalten der Mirazidien. Sie bewegen sich zum Licht, reagieren also positiv fototaktisch. Die Anreicherung der Wimperlarven in dem beleuchteten Hals eines Meßkolbens, die Ansammlung unter der Wasseroberfläche einer Petrischale, aber auch die Tendenz, sich an der Petrischalenwand zu sammeln, die bei der Dunkelfeldmikroskopie mit schräg von unten einfallendem Licht am stärksten beleuchtet wird und zusätzlich noch das Licht reflektiert, weisen darauf hin. Auch MASON und FRIPP (1976) fanden bei Mirazidien von *Schistosoma mansoni* eine Ansammlung an der Stelle der höchsten Lichtintensität. Auch wenn die Beleuchtung gleichmäßig von allen Seiten erfolgt, sammelt sich der größte Teil der Wimperlarven an der Wasseroberfläche. Die Vermutung ist somit berechtigt, daß eine negative Geotaxis am Zustandekommen der Bewegung nach oben beteiligt ist.

Bei der Beschaffung von Schneckenmaterial habe ich festgestellt, daß sich Planorbiden hauptsächlich an Pflanzenteilen, die auf dem Wasser schwimmen, befinden. Gerade dieses positiv fototaktische Verhalten, eventuell verstärkt durch eine negative Geotaxis, kann die Mirazidien mit großer Wahrscheinlichkeit in die Nähe der Schnecken bringen. Ich konnte aber auch beobachten, daß sich die Schnecken bevorzugt in Schattenbereichen aufhalten. Dieser Umstand würde dem Zusammentreffen der Mirazidien und der Schnecken entgegenwirken. Andererseits ist den Mirazidien und den Schnecken das Bestreben zur Erreichung von Grenzflächen gemeinsam (CHERNIN, 1970). Diese Mechanismen sind sicher insofern von Bedeutung, als sie die Mirazidien in den engeren Anziehungsbereich der Schnecke bringen, spielen aber für die Auswahl der geeigneten Zwischenschnecke eine untergeordnete Rolle. Somit kann ich

für *Paramphistomum cervi* die Erkenntnis von ETTGES und DECKER (1963) nicht bestätigen, die zwar die Wirkung chemischer Substanzen im SCW von *Biomphalaria glabrata* für die Zwischenwirtfindung der Mirazidien von *Schistosoma mansoni* erkannten, aber der Orientierung nach Licht und Schwerkraft wesentlich mehr Bedeutung beimaßen. SALADIN (1979) vermutet, daß eventuell einige Autoren die große Bedeutung der Chemostimulation nicht erwähnen, weil sie die Verteilungsphase, in der die Mirazidien noch nicht sensibel sind, nicht erkannt haben.

CHERNIN und PERLSTEIN (1969) demonstrierten sehr anschaulich die untergeordnete Wirkung des Lichts bei der Infektion von *Biomphalaria glabrata* mit Mirazidien von *Schistosoma mansoni*. In einem langen rechteckigen Gefäß, dessen eine Hälfte abgedunkelt war, wurde zwar, wenn zwei Schnecken vorhanden waren, die, die sich im beleuchteten Ende befand bevorzugt infiziert. Dagegen wurde bei Anwesenheit nur einer Schnecke - einmal im Dunkeln und einmal im hellen Ende des Gefäßes - kein Unterschied festgestellt. Auch bei völliger Dunkelheit konnten Schnecken infiziert werden.

Schon viele Autoren haben festgestellt, daß eine Schnecke durch spezifische Stoffwechselprodukte, die die Mirazidien zu besonderen Verhaltensweisen stimulieren, zur geeigneten Zwischenwirtschnecke wird. MAC INNIS (1965) beobachtete die hohe Sensibilität der Mirazidien von *Schistosoma mansoni* gegenüber Substanzen, die von *Biomphalaria glabrata* ausgehen. Er beschrieb eine ganze Palette von verschiedenen Bewegungen der Wimperlarven (enge Schlängelbewegungen, ständiges Umkreisen der Schnecke, kleine Kreise, korkenzieherartige Bahnen, ständiges Antippen an die Schnecke). CHERNIN (1970) fand, daß sich Mirazidien

des gleichen Parasiten, die anfangs in geraden Bahnen schwammen, nach Eintropfen von SCW an der Eintropfstelle unter aufgeregten Hin- und Herbewegungen sammelten. Die aktive Zone um die Zwischenwirtschnecke *Biomphalaria glabrata* dehnte sich allmählich aus, da die stimulierenden Stoffe in die Umgebung diffundierten. Auch bei anderen Trematodenlarven wurden gleiche Beobachtungen gemacht, z.B. SHIFF und KRIEL (1970) bei *Schistosoma haematobium*, PRECHEL, CAIN und NOLLEN (1976) bei *Megalodiscus temperatus*. Derartige Verhaltensweisen konnte ich auch bei den Mirazidien von *Paramphistomum cervi* finden.

Während die meisten Autoren die qualitative Änderung des Schwimmusters der Mirazidien nur subjektiv beschreiben konnten, ermöglichte die Dunkelfeldfotographie, wie sie auch MASON und FRIPP (1976) sowie PRECHEL, CAIN und NOLLEN (1976) anwandten, eine Objektivierung der Verhaltensweisen der Mirazidien. Voraussetzung einer guten Darstellung der Mirazidienbahnen bei langer Belichtungszeit war, daß die Schnecke sich nicht bewegt. ETTGES und DECKER (1963) brachen das Schneckenhaus teilweise, um die Schnecke an der Bewegung zu hindern; dabei trat aber Haemolymph ins Wasser über, wodurch unter Umständen die Zusammensetzung des SCW verfälscht wurde. Die mechanische Fixierung der Schnecke mit einer Büroklammer oder einem kleinen Nylonnetz war ebenfalls nicht befriedigend, da die Schnecke durch gesteigerte Aktivität des Kopfes und des Fußes der Bewegungseinschränkung entgegenwirkte. Als beste Methode erwies sich die Betäubung der Schnecke mit einer 1%igen Nembutallösung.

Ein weiterer Nachteil, der bei der Interpretation der

Fotographie berücksichtigt werden muß, besteht darin, daß ein dreidimensionaler Vorgang zweidimensional wiedergegeben wird. Die Schlangenlinien, die durch eine kurze Irritation der Mirazidien bei Kontakt mit dem Boden der Petrischale, der Wasseroberfläche, einem Hindernis, durch eine Turbulenz im Wasser oder durch eine längere Stimulierung durch SCW zustandekommen, sind in den meisten Fällen als spiralförmige Bewegungen anzusehen; darauf weisen die besonderen Aufhellungen an den Wendepunkten hin, an denen das Mirazidium mehrmals an der gleichen Stelle, aber in unterschiedlichen Ebenen abgelichtet wurde. MASON und FRIPP (1976) machten bei *Schistosoma mansoni* dieselbe Feststellung. Die Dunkelfeldfotographie stellt eine gute Möglichkeit dar, das normale Verhalten der Mirazidien mit dem in Gegenwart geeigneter und nicht geeigneter Schnecken bzw. deren stimulierenden Substanzen zu vergleichen. Gerade, teilweise leicht wellenförmige Bahnen gehen bei Zugabe einer geeigneten Schnecke oder deren SCW sofort in knäueelförmige verschlungene Bewegungslinien über, vorausgesetzt, daß es sich um über 60 Minuten alte Mirazidien handelt.

Als Schnecken, die diese Verhaltensänderung bewirken können, haben sich *Planorbis planorbis* und *Anisus vortex* erwiesen. Diese werden von verschiedenen Autoren als geeignete Zwischenwirte für *Paramphistomum cervi* erwähnt (SOLTYS und ZIOMKO, 1971; KRANEBURG, 1977; ODENING, 1979). Die Fotographie der Bewegungen der Mirazidien an anderen Schnecken (*Planorbis corneus*, *Biomphalaria glabrata* und *Lymnea stagnalis*) zeigte keine Abweichung vom normalen Schwimmverhalten. Somit können diese Schnecken als Zwischenwirte ausgeschlossen werden.

Ursprünglich sollte in dieser Arbeit auch auf die Inhaltsstoffe des SCW eingegangen werden; es erwies sich jedoch die chemische Analyse im Rahmen unserer Möglichkeiten als zu kompliziert, besonders weil die für die stimulierende Wirkung in Frage kommenden Substanzen in sehr geringen Konzentrationen (Mikromolbereich) vorkommen (SHIFF und KRIEL, 1970; MAC INNIS, 1974; DISKO und WEBER, 1979).

Die Meinungen, welche Inhaltsstoffe des SCW für die Zwischenwirtfindung von Bedeutung sind, gehen weit auseinander. Einerseits werden organische Bestandteile verantwortlich gemacht; so fand MAC INNIS (1974) 19 Aminosäuren im SCW von *Biomphalaria glabrata*, DISKO und WEBER (1979) sahen im Tripeptid Glutathion die Schlüsselsubstanz für die sensibilisierende Wirkung auf Mirazidien von *Schistosoma mansoni*. Andererseits weist STIBBS und Mitarb. (1976) auf die Bedeutung der Ionenverschiebung durch die Schnecke hin, die Ca^{++} im Austausch mit Mg^{++} dem Wasser entnimmt. Letzteres würde bedeuten, daß die Mirazidien unter Umständen auch auf das Fehlen eines Stoffes reagieren. Die Ursache für diese unterschiedlichen Auffassungen liegt vielleicht darin, daß die Herstellung des SCW bezüglich der Relation Wasser zu Schnecken, der Dauer der Konditionierung und der Wasserqualität nicht einheitlich erfolgte. Reines destilliertes Wasser, wie es von PRECHEL, CAIN und NOLLEN (1976) sowie von ROBERTS, WARD und CHERNIN (1979) zur SCW-Produktion von *Biomphalaria glabrata* bzw. *Helisoma trivolvis* verwandt wurde, erscheint mir am wenigsten geeignet, da eventuell Stoffwechselvorgänge der Schnecken durch die Notwendigkeit verstärkter Osmoregulation verändert werden. Schon die Tatsache, daß Schnecken versuchen, aus reinem Aqua dest. herauszukriechen, kann auf erhöhten Streß hinweisen.

Um die Anziehung durch die Schnecken auch quantitativ zu erfassen, entwickelten einige Autoren Versuchsanordnungen, in denen die Mirazidien verschiedener Trematoden die Möglichkeit hatten, zwischen Schneckenarten zu wählen und sich bei der als Zwischenwirt geeigneten zu versammeln (SHIFF und KRIEL, 1970; SPONHOLZ und SHORT, 1975; ROBERTS und Mitarb., 1978; DISKO und WEBER, 1979). Den Vorteil meiner eigenen Versuchsanordnung sah ich darin, daß durch die runde Form der zentralen Kammer möglichst viele Mirazidien, die an der Wand entlang schwammen, zu den Toren gelangten, hinter denen sich die Schnecken befanden. Außerdem enthält das System keine Ecken oder Engpässe, welche die Zwischenwirtfindung beeinflussen könnten. Auch bei diesem Versuch zeigte sich ganz klar, daß *Planorbis planorbis* und *Anisus vortex* als geeignete Zwischenwirtschnecken anzusehen sind; dagegen gelangten zu *Biomphalaria glabrata*, *Planorbis corneus* und *Lymnea stagnalis* nur wenige Mirazidien durch Zufall. An den Toren zu diesen 3 Schneckenarten schwammen die Wimperlarven geradlinig vorbei, während sie an den Toren zu *Planorbis planorbis* und *Anisus vortex* sich aufgeregt hin- und herbewegten und nach kurzer Zeit in die Nebenkammer eintraten. Wie schon durch die photographische Darstellung des Verhaltens der Mirazidien angedeutet wurde, übte *Planorbis planorbis* einen größeren Einfluß auf die Mirazidien von *Paramphistomum cervi* aus als *Anisus vortex*.

Während die Bedeutung der chemosensibilisierenden Stoffe der Schnecke für die Zwischenwirtfindung unumstritten ist, gehen die Auffassungen weit auseinander, ob es sich um chemotaktische oder chemokinetische Vorgänge handelt. Unter Chemotaxis versteht man die Wanderung der Mirazidien zur Schnecke entlang eines Intensitätsgradienten der chemo-

sensibilisierenden Substanz. Bei Chemokinesis handelt es sich lediglich um eine Veränderung des Bewegungsmusters; es wird die Bewegung der Mirazidien so verändert, daß sie einen engen Bereich um die Schnecke nicht mehr verlassen. Es steigt somit die Wahrscheinlichkeit, daß sie auf die Schnecke treffen. Während MAC INNIS (1965) bei *Schistosoma mansoni* eine Chemotaxis beobachtete, beschrieb CHERNIN (1970) die Zwischenwirtfindung als Chemokinesis. Eine besondere Art der Chemokinesis bezeichneten ROBERTS, WARD und CHERNIN (1979) bei *Schistosoma mansoni* als „ boundary reaction “. Hierbei gelangen die Mirazidien durch Zufall in die aktive Zone um die Schnecke. Wenn sie diesen Bereich wieder verlassen wollen, reagieren sie auf die plötzliche Abnahme der Konzentration mit einer erhöhten Rate der Richtungsänderungen und verbleiben somit beim Zwischenwirt.

Ob es sich bei der Zwischenwirtfindung bei *Paramphistomum cervi* um eine Chemotaxis oder eine Chemokinesis handelt, ist aufgrund meiner Beobachtungen schwer zu entscheiden. Einerseits spricht die Erkenntnis, daß die Mirazidien beim Auftropfen von SCW schlagartig ihr Verhalten ändern, für Chemokinesis, andererseits deutet die Tatsache, daß sich die stimulierten Wimperlarven in engem Kontakt zur Schnecke aufhalten, obwohl die aktive Zone viel größer ist, auf Chemotaxis hin. Vielleicht verfügen die Mirazidien auch über zwei Chemorezeptoren, wie es MAC INNIS (1965) für *Schistosoma mansoni* vermutete; dabei erfolgt die Sensibilisierung des einen Rezeptors bei geringer Konzentration und hat eine chemokinetische Reaktion zur Folge, während der andere auf höhere Konzentrationen unmittelbar bei der Schnecke anspricht, was zu einer Chemotaxis führt.

Nach den Ausführungen von SALADIN (1979) müssen bei der Erforschung der Zwischenwirtfindung von Mirazidien vor allem drei Fragen geklärt werden:

1. Reagieren Mirazidien auf chemische Substanzen der Schnecke oder erfolgt die Zwischenwirtfindung rein zufällig ?
2. Ist die Reaktion der Mirazidien auf die Schnecke artspezifisch ?
3. Welche stimulierenden chemischen Substanzen sind beteiligt ?

Die ersten beiden Fragen sind positiv zu beantworten:

Die Zwischenwirtfindung bei *Paramphistomum cervi* beruht auf Chemosensibilisierung durch bestimmte Zwischenwirtschnecken und ist somit nicht dem Zufall überlassen. Dagegen bedarf die dritte Frage noch weiterer Klärung.

Um eine geeignete Zwischenwirtschnecke zu infizieren, reicht in der Regel ein einziges Mirazidium nicht aus. Bei der Infektion von *Planorbis planorbis* mit Mirazidien von *Paramphistomum cervi* ermittelte ich sogar eine Mindestzahl von 25 - 30 Mirazidien. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß die Infektion unter Optimalbedingungen in einem eng begrenzten Raum zustandegekommen ist, sodaß alle Mirazidien die gleiche Chance hatten die Schnecke zu erreichen. In meinem Versuch verwendete ich sehr kleine Schnecken ($\varnothing$ 5 mm), die nach KRANEBURG (1977) leichter zu infizieren sind als ältere. Im Gegensatz dazu hat allerdings IWANAGA (1976) die Feststellung gemacht, daß die Infektionsrate bei der Infektion von *Oncomelania hupensis nosophora* mit Mirazidien von *Schistosoma japonicum* mit der Größe der Schnecken steigt. Unter natürlichen Bedingungen liegt die Infektionsdosis sicher höher.

Das Eindringen eines Mirazidiums in das Gewebe der Schnecke kann noch nicht als erfolgreiche Infektion bezeichnet werden, sondern erst das Auftreten von mindestens zwei Sporozysten bei allen Versuchsschnecken beweist den Infektionserfolg, obwohl auch dann die Schnecke unter Umständen die Infektion abwehren kann, sodaß keine Zerkarien zur Ausschüttung gelangen.

SLUITERS und JOOSSE (1979) benötigten für die Infektion einer *Lymnea stagnalis* 4 *Trichobilharzia ocellata*-Mirazidien. IWANAGA (1976 und 1977) gab die Infektionsdosis für *Schistosoma japonicum* bei der Infektion von *Oncomelania hupensis nosophora* mit 10 Mirazidien pro Schnecke und von *Oncomelania hupensis quadrasi* mit 3 Mirazidien pro Schnecke an.

Wenn bei diesen eng miteinander verwandten Schnecken solch große Differenzen auftreten, so ist auch zu erwarten, daß bei der Infektion von Planorbiden mit *Paramphistomum cervi*-Mirazidien ein Unterschied zwischen *Planorbis planorbis* und *Anisus vortex*, die sich schon bei der Zwischenwirtfindung als weniger attraktiv erwiesen hat, besteht.

SAMNALIEV und VASSILEV (1979) ermittelten 10 Mirazidien von *Paramphistomum microbothrium* als Infektionsdosis für *Lymnea truncatula*.

Die für verschiedene Trematoden-Mirazidien angegebenen Infektionsdosen sind nur bedingt miteinander vergleichbar, da sie unter unterschiedlichen Bedingungen, die Temperatur, das Alter der Schnecken, die Vorbehandlung der Mirazidien, die Dauer der Infektion und das Infektionsareal betreffend, ermittelt wurden. Dennoch scheint die von mir ermittelte Infektionsdosis von 25 - 30 Mirazidien von *Paramphistomum cervi* im Vergleich zu anderen Trematoden relativ hoch zu sein. Hieraus ergibt sich,

daß eine große Mirazidienanzahl zur Aufrechterhaltung des Lebenszyklus des Pansenegels nötig ist.

Es hat sich gezeigt, daß auch bei günstigen Voraussetzungen im Labor - im begrenzten Raum einer Petrischale und bei einer großen Anzahl von Mirazidien - nur 30 % der Schnecken infiziert werden können. Unter natürlichen Verhältnissen sind die Infektionsraten bedeutend geringer. Nach ODENING (1971) liegt z.B. bei *Fasciola hepatica* die natürliche Infektionsrate auch in Leberegelgebieten nur bei 4 - 6 %. Wenn DURIE (1949) von natürlichen Schneckeninfektionsraten von 40 % bei *Paramphistomum cotylophorum* und *Paramphistomum cervi* in Australien berichtet, so müssen zum Zeitpunkt der Infektion außerordentlich gute Umweltbedingungen geherrscht haben.

GLUZMAN (1967) konnte im Laborversuch junge *Planorbis planorbis* zu annähernd 100 % mit *Paramphistomum*-Mirazidien infizieren. Nach KRANEBURG (1977) können Jungschnecken allerdings leichter infiziert werden. Da sie aber durch die Infektion wesentlich stärker geschädigt werden als ältere Schnecken, kommen trotz hoher Infektionsraten eher weniger Zerkarien zur Ausschüttung. Andererseits sind ältere Schnecken besser in der Lage eine Infektion abzuwehren, sodaß auch das Alter der Schnecke unter Umständen die Weiterführung des Lebenszyklus der Parasiten einschränkt.

Nach meinen Beobachtungen konnten 20 - 30 % der infizierten Schnecken die Weiterentwicklung der Wimperlarven zu Zerkarien unterbinden. Allerdings wurde auch ein Teil (14 - 24 %) der Schnecken durch die Parasitenlarven getötet.

Parasitische Kastration und Gigantismus wurde schon bei anderen Trematoden festgestellt. So fand z.B. WILSON und DENISON (1980) bei einer Gruppe *Lymnea truncatula*, die mit Mirazidien von *Fasciola hepatica* infiziert worden war, einen deutlichen Rückgang der Eiproduktion und eine Zunahme des Gewichts und der Größe im Vergleich zu einer nicht infizierten Kontrollgruppe.

Eine Abnahme der Fertilität und ein gewisser Gigantismus scheint auch bei der Infektion von *Planorbis planorbis* mit Wimperlarven von *Paramphistomum cervi* vorzukommen, obwohl beides nicht so deutlich in Erscheinung tritt. Auch kam die Eiproduktion der infizierten Gruppe nie ganz zum Erliegen, sodaß nicht von einer vollständigen parasitischen Kastration gesprochen werden kann. Es liegt lediglich eine teilweise Schädigung der Fortpflanzungsorgane vor, während WILSON und DENISON (1980) eine totale Zerstörung des Ootestes durch die Redien feststellten. ETTGES und GRESSO (1965) fanden bei der Infektion von *Biomphalaria glabrata* mit *Schistosoma mansoni*-Mirazidien zwar einen Verlust der Fertilität, aber keine völlige Kastration, da sich die Eiproduktion nach einer gewissen Zeit wieder normalisierte.

Grundsätzlich können die Larvenstadien die Fortpflanzung der Schnecke auf zwei verschiedene Arten stören: Entweder mechanisch durch direkte Schädigung der Gonaden - das Gewebe dient den Redien als Nahrung - oder physiologisch durch die Störung des Stoffwechsels der Schnecke (MALEK und CHENG, 1974).

WILSON und DENISON (1980) erklärten den widersprüchlichen Sachverhalt, daß einerseits der Parasit Schnecken-gewebe zerstört, andererseits aber das Gewicht der Schnecke zunimmt, damit, daß der Energiehaushalt von Reproduktion auf Wachstum der Schnecke und der Larvenstadien um-

gestellt wird.

Die Temperatur, bei der die Schnecken gehalten werden, scheint in gewisser Weise die Wechselbeziehung zwischen Parasitenlarven und Zwischenwirt zu beeinflussen. Bei 24°C war die Todesrate höher, der Rückgang der Eiproduktion sowie die Fähigkeit, eine Infektion abzuwehren, aber geringer als bei 20°C. Außerdem vollzog sich die Entwicklung vom eingedrungenen Mirazidium zur schlupfreifen Zerkarie bei der hohen Temperatur schneller (45 Tage) als bei der niederen Temperatur (52 Tage). Daraus kann man eventuell schließen, daß bei hohen Temperaturen die Entwicklung des Parasiten im Zwischenwirt heftiger verläuft, sodaß die Abwehr der Infektion erschwert ist und mehr Schnecken zugrunde gehen. Andererseits wird diese Interpretation durch die Feststellung, daß bei hoher Temperatur die Fertilität weniger stark beeinflußt wird, nicht bestätigt.

V. Zusammenfassung

Das Massenschlupfverhalten der *Paramphistomum cervi*-Mirazidien an Abhängigkeit von den drei wichtigsten Umweltparametern (Licht, Temperatur, pH-Wert), das Zwischenwirtfindungsverhalten sowie einige Aspekte zur Infektion der Zwischenwirtschnecke wurden behandelt.

Das Schlupfoptimum fand bei einer Temperatur von 26 - 28°C, einer Lichtintensität von 3 500 Lux und einem pH-Wert von 7,0 statt.

Während der ersten Stunde nach dem Schlupf bewegten sich die Mirazidien sehr schnell (3,1 mm/sec) geradlinig durch das Wasser; eine geeignete Zwischenwirtschnecke konnte ihr Verhalten nicht beeinflussen.

Erst ab der zweiten Stunde wurden sie langsamer, änderten öfters ihre Richtung und zeigten sich gegenüber einer als Zwischenwirt geeigneten Schnecke sensibel. Die Veränderung des Schwimmverhaltens durch chemische Substanzen, die von der Zwischenwirtschnecke ausgehen, wurden photographisch dokumentiert.

In Versuchsbehältnissen, in denen die Mirazidien zwischen verschiedenen Schnecken wählen konnten, erwiesen sich *Planorbis planorbis* und *Anisus vortex* als geeignete Zwischenwirte, im Gegensatz zu *Planorbis corneus*, *Lymnea stagnalis* und *Biomphalaria glabrata*.

Zur Infektion von *Planorbis planorbis* werden mindestens 25 - 30 *Paramphistomum cervi*-Mirazidien benötigt.

Die Entwicklungszeit betrug bei 24°C 45 Tage und bei 20°C 52 Tage.

Infizierte Schnecken produzierten deutlich weniger Eier als nicht infizierte, zeigten aber erhöhtes Wachstum.

Schmid, Karlheinrich: Conditiones for hatching of *Paramphistomum cervi* miracidia and their host-finding behaviour in presence of *Planorbis planorbis* - a study on the life cycle of *Paramphistomum cervi*

Summary

The mass-hatching of *Paramphistomum cervi*-miracidia depending on light, temperature and pH of water, the swim and searching behaviour and some aspects concerning the infection of the intermediate host have been investigated. Mass-hatching took place at 26 - 28°C, 3 500 Lux and pH of 7,0.

During the first hour the miracidia showed a fast (3,1 mm/sec) linear swimming; a suitable intermediate host could not alter miracidia behaviour. Then they slowed down; the rate of change of direction increased and stimulation by the host-snail could be demonstrated. The swimming pattern has been recorded by fotography. Choice chambers were used to test the attraction of miracidia by various snails. *Planorbis planorbis* and *Anisus vortex* proved to be suitable intermediate hosts but not *Planorbis corneus*, *Lymnea stagnalis* and *Biomphalaria glabrata*.

At least 25 - 30 miracidia of *Paramphistomum cervi* were necessary for infection of *Planorbis planorbis*. The development in the snail took 52 days at 20°C and 45 days at 24°C. The egg-production of infected snails dropped while the growth increased.

VI. Literaturverzeichnis

BORAY, J.C. (1959): Studies on intestinal amphistomiasis in cattle.

Aust. vet. J. 35, 282-287

CHERNIN, E., and J.M. PERLSTEIN (1969): Further studies on interference with the host-finding capacity of *Schistosoma mansoni* miracidia.

J. Parasit. 55, 500-508

CHERNIN, E. (1970): Behavioral responses of miracidia of *Schistosoma mansoni* and other trematodes to substances emitted by snails.

J. Parasit. 56, 287-296

DINNIK, J.A. (1954): The life cycle of *Paramphistomum microbothrium* Fischoeder, 1901 (Trematoda, Paramphistomidae).

Parasitology 44, 285-299

DINNIK, J.A. (1961): *Paramphistomum phillerouxi* sp. nov. (Trematoda: Paramphistomidae) and its development in *Bulinus forskalii*.

J. Helminth. 35, 69-90

DISKO, R., und L. WEBER (1979): The attraction of miracidia of *Schistosoma mansoni* to the snail *Biomphalaria glabrata*.

Symposium der Deutschen Gesellschaft für Parasitologie, Mollusken als Zwischenwirte.

Würzburg, 4. - 7. April 1979

- DURIE, P.H. (1949): A preliminary note on the life cycle of *Paramphistomum cotylophorum* (Fischöder 1901), and *Paramphistomum cervi* (Schränk 1790), (Trematoda: Paramphistomidae)
Aust. vet. J. 25, 209
- ETTGES, F.J., and C.L. DECKER (1963): Chemosensitivity of the miracidium of *Schistosoma mansoni* to *Australorbis glabratus* and other snails.
J. Parasit. 49, 114-116
- ETTGES, F.J., and W. GRESSO (1965): Effect of *Schistosoma mansoni* infection upon fecundity in *Australorbis glabratus*.
J. Parasit. 51, 757-760
- FAUST, E.C. (1924): The reaction of the miracidia of *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma haematobium* in the presence of their intermediate hosts.
J. Parasit. 10, 199-204
- FISCHÖDER, F. (1903): Die Paramphistomiden der Säugetiere.
Zool. Jhb. 17, 485-660
- GLUZMANN, J.Y. (1967): Technique for obtaining paramphistome metacercariae for experimental purpose.
Veterinariya, Kiev 11, 44-46
- GOTTSCALK, C. (1963): Zur Verbreitung des Leberegels, des Lanzettegels und des Pansenegels in den thüringischen Bezirken Erfurt und Gera.
Angew. Parasit. 4, 101
- GUPTA, N.K. (1943): Paramphistomid parasites of oxen and buffaloes in Lahore.
Proceedings of the Indian Science Congress 3, 152

HORAK, J.G. (1967): Host-parasite relationships of *Paramphistomum microbothrium* Fischöder, 1901, in experimentally infested ruminants with particular reference to sheep.

Onderstepoort J. vet. Res. 34, 451-540

IWANAGA, Y. (1976): Observations on the susceptibility of *Oncomelania* spp. to *Schistosoma japonicum*, Yamanashi strain. 1. The rates of infection and survival of laboratory colonies of *Oncomelania hupensis* nosophora, Yamanashi strain.

Jap. J. Parasit. 25, 59-68

IWANAGA, Y. (1977): Studies on the laboratory breeding and infectivity of *Oncomelania hupensis* quadrasi.

Hiroshima J. med. Sci. 26, 29-34

KOZAKIEWICZ, B. (1980): Dynamics of the occurrence of paramphistomiasis of cattle and sheep in the Poznan district.

Med. weteryn. 36, 129-192

KRANEBURG, W. (1977): Beiträge zur Biologie und Pathogenität des einheimischen Pansenegels *Paramphistomum cervi*. 1. Entwicklungsstadien in der Außenwelt und im Zwischenwirt.

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 90, 316-320

KRANEBURG, W. (1978): Beiträge zur Biologie und Pathogenität des einheimischen Pansenegels *Paramphistomum cervi*. 2. Vorkommen bei Weiderindern in Marschgebieten.

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 91, 46-48

- KRANEBURG, W., und J. BOCH (1978): Beiträge zur Biologie und Pathogenität des einheimischen Pansenegels *Paramphistomum cervi*. 3. Entwicklung in Rind, Schaf und Reh.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 91, 71-75
- LEIPER, R.T., and E.L. ATKINSON (1915): Observation on the spread of Asiatic schistosomiasis.
Br. med. J. 30, 201-203
- LENGY, J. (1960): Study on *Paramphistomum microbothrium* Fischöder, 1901. A rumen parasite of cattle in Israel.
Bull. Res. Coun. Israel B 9, 71-130
- MAC INNIS, A.J. (1965): Responses of *Schistosoma mansoni* miracidia to chemical attractants.
J. Parasit. 51, 731-746
- MAC INNIS, A.J. (1974): Identification of chemicals of snail origin that attract *Schistosoma mansoni* miracidia.
Nature(Lond.) 248, 261-263
- MALEK, E.A., and T.C. CHENG (1974): Medical and economic Malacology.
Academic Press, New York and London 1974
- MASON, P.R., and P.J. FRIPP (1976): Analysis of the movements of *Schistosoma mansoni* miracidia using dark-ground photographie.
J. Parasit. 62, 721-727

- MASON, P.R. (1979): Ammonia excretion by planorbid snails - a possible mechanism for host selection by *Schistosoma miracidia*.
J. Parasit. 65, 819-820
- MATTES, O. (1936): Der Entwicklungsgang des Lanzettegels *Dicrocoelium lanceatum*.
Z. Parasitenk. 8, 371
- MEREMINSKI, A.J. (1970): Prognosis of paramphistomiasis in ruminants.
Veterinariya 47, 67-69
- MITTERER, K.E. (1975): Das Schlüpfen der Mirazidien des großen Leberegels *Fasciola hepatica* L. in Abhängigkeit verschiedener CO₂ Konzentrationen.
Z. Parasitenk. 47, 35-43
- NÄSMARK, K.E. (1937): A revision of the trematode family Paramphistomidae.
Zoologiska Bidrag fran Uppsala 16, 301-565
- ODENING, K. (1971): Der große Leberegel und seine Verwandten.
Die neue Brehm-Bücherei, A. Ziemsen Verlag, Wittenberg-Lutherstadt
- ODENING, K. (1978): Zur Frage der Pansenegelarten in der DDR (Trematoda: Paramphistomidae) und ihrer Zwischenwirtschnecken.
Mh. Vet.-Med. 5, 179-181
- ODENING, K. (1979): Zwischenwirtsspezifität, Cercarien- und Eimerkmale der drei einheimischen Paramphistomum-Arten (Trematoda).
Zool. Jb., Syst. 106, 214-241

- PAV, J. (1962): *Paramphistomum cervi* (Schrank 1790)
u nasi spárkaté zvere.
Sbornik Československé Akademie Zemedelskych
Ved. Veterinarni Medicina 35, 161-166
- PAVLOVIC, D. (1975): Infection rates of some endopara-
sites found at slaughter in buffaloes of diffe-
rent ages in the Kosovo territory SAP (Yugoslavia).
Vet. Glas. 29, 285-290
- FRECHEL, D.P., G.D. CAIN, and P.M. NOLLEN (1976): Respon-
ses of *Megalodiscus temperatus* miracidia to amino
and sialic acids found in snail-conditioned water.
J. Parasit. 62, 693-697
- REINHARDT, S. (1969): Zur Entwicklung, Anatomie und Histo-
logie von *Paramphistomum microbothrium* (Trematoda,
Digenea).
Dissertation, Bonn
- REINHARDT, S. (1970): Wie groß ist die Bedeutung von Pansen-
egeln in Deutschland ?
Schlacht- und Viehhof-Ztg. 70, 350-353
- ROBERTS, T.M., H.H. STIBBS, E. CHERNIN, and S. WARD (1978):
A simple quantitative technique for testing be-
havioral responses of *Schistosoma mansoni* miraci-
dia to chemicals.
J. Parasit. 64, 277-282
- ROBERTS, T.M., S. WARD, and E. CHERNIN (1979): Behavioral
responses of *Schistosoma mansoni* miracidia in con-
centration gradients of snail conditioned water.
J. Parasit. 65, 41-49
- SALADIN, K.S. (1979): Behavioral parasitology and perspec-
tives an miracidial host-finding.
Z. Parasitenk. 60, 197-210

- SAMNALIEV, P., and J. VASSILEV (1979): The influence of temperature on penetration of *Lymnea truncatula* by *Paramphistomum microbothrium* miracidia. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Parasitologie, Mollusken als Zwischenwirt, Würzburg, 4.- 7. April 1979
- SEY, O. (1974): On the species of *Paramphistomum* of cattle and sheep in Hungary. Acta vet. Acad. Sci. hung. 24, 19-37
- SEY, O. (1978): Examination of rumen flukes (Trematoda: Paramphistomata) of cattle in Rumania. Parasit. Hung. 11, 23-25
- SEYFARTH, M. (1938): Pathogene Wirkung und innerer Bau von *Paramphistomum cervi*. Dtsch. tierärztl. Wschr. 46, 515-518
- SHIFF, C.J., and R.L. KRIEL (1970): A water-soluble product of *Bulinus* (Physopsis) globosus attractive to *Schistosoma haematobium* miracidia. J. Parasit. 56, 281-286
- SLUITERS, J.F., and J. JOOSSE (1979): The effect of a *Trichostrongylus axei* ocellata-infection on the female reproductive activity of *Lymnea stagnalis* and its endocrine control system. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Parasitologie, Mollusken als Zwischenwirt, Würzburg 4. - 7. April 1979
- SOLTYS, A., und J. ZIOMKO (1971): Intermediate hosts of *Paramphistomum* sp. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 15, 121-122

- SPONHOLZ, G.M., and R.B. SHORT (1975): *Schistosoma mansoni* miracidial behavior: an assay system for chemo-stimulation.
J. Parasit. 61, 228-232
- STANDEN, O.D. (1951): Some observations upon the maintenance of *Australorbis glabratus* in the laboratory.
Ann.Trop. Med. Parasitol. 45, 80-83
- STIBBS, H.H., E. CHERNIN, S. WARD, and M.L. KARNOVSKI (1976): Magnesium emitted by snails alters swimming behaviour of *Schistosoma mansoni* miracidia.
Nature (Lond.) 260, 702-703
- SWART, P.J., and R.K. REINECKE (1962): Studies on paramphistomiasis. II. The mass production of metacercariae of *Paramphistomum microbothrium* Fiscoeder 1901.
Onderstepoort J. vet. Res. 29, 189-195
- SZIDAT, L. (1937): Über die Entwicklungsgeschichte und den ersten Zwischenwirt von *Paramphistomum cervi* Zeder 1790 aus dem Magen von Wiederkäuer.
Z. Parasitenk. 9, 1-19
- TSVETEVA, N.P. (1959): Histopathology of *Paramphistomum* infection in calves.
Helminthologia (Bratisl.) 1, 249-255
- WILLMOT, S. (1950): On the species of *Paramphistomum* Fiscoeder, 1901 occuring in Britain and Ireland with notes on some material from the Netherlands and France.
J. Helminth. 24, 155-170

- WILSON, R.A., and J. DENISON (1980): The parasitic castration and gigantism of *Lymnea truncatula* with the larval stages of *Fasciola hepatica*.
Parasitology Research 1, 109-119
- WRIGHT, C.A. (1959): Host-location by trematode miracidia.
Ann. Trop. Med. Parasitol. 53, 288-292
- WRIGHT, C.A. (1960): Relationship between trematodes and molluscs.
Ann. Trop. Med. Parasitol. 54, 1-7
- YUSSUF, J.A. (1970): Species of paramphistomes (Trematoda) from buffaloes in Peshawar region of West Pakistan.
Trop. Anim. Hlth. Prod. 2, 235-237.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch möchte ich an dieser Stelle für die freundliche Überlassung des Themas und die ausgezeichneten Arbeitsbedingungen am Institut danken.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. F. Patzig für die wertvollen Hinweise und die jederzeit gern gewährte Anleitung bei der Anfertigung meiner Arbeit.

Frau M. Kränkle danke ich recht herzlich für die sorgfältige Schreibarbeit.

Lebenslauf

Mein Name ist Karlheinrich Schmid. Ich wurde am 28. 4. 1951 in Kaufbeuren / Bayern als Sohn des heutigen Oberstudiendirektors Dr. Hansheinrich Schmid und der Oberstudienrätin Frau Dr. Marianne Schmid, geb. Rockstroh geboren.

Im Jahre 1957 trat ich in die Grundschule ein und wechselte nach der 4. Klasse auf den humanistischen Zweig des Gymnasiums Kaufbeuren über. Nach der 7. Klasse trat ich in das Musische Gymnasium Marktoberdorf ein, wo ich 1971 die Reifeprüfung bestand. Meine Schulzeit wurde im Jahre 1969 / 70 durch einen einjährigen Aufenthalt als Austauschschüler in den USA unterbrochen.

Im Herbst 1971 wurde ich zum Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilian-Universität zugelassen, wo ich im Frühjahr 1979 die Tierärztliche Prüfung ablegte.

